

ℓ-メントール-エタノール-水系の
経皮吸収促進効果に関する研究

乙第25号

小 林 大 介

ℓ -メントール-エタノール-水系の 経皮吸収促進効果に関する研究

小 林 大 介

目次

総論の部	1
序論	1
第1編 塩酸モルヒネ(MPH)および数種循環器官用薬に対する ℓ-メントール-エタノール-水系(MEW系)の経皮吸収促進効果	3
第1章 MPHの経皮吸収性に対する種々促進剤の効果	4
第2章 MEW系の数種循環器官用薬に対する経皮吸収促進効果	7
第3章 MEW系の作用の特徴	13
第4章 本編の考察	19
第2編 MEW系の経皮吸収促進機構	22
第1章 皮膚2層膜モデルに基づく経皮吸収促進機構の解析	22
第1節 促進機構解析のための物理化学的モデルの構築	22
第2節 物理化学的パラメーターから見たMEW系の促進機構	34
第2章 ヘアレスラットとヒト皮膚間に見られる促進効果の差と促進機構	41
第1節 促進効果の差とその原因	41
第2節 ラグタイムの差とその原因	48
第3章 本編の考察	51
第3編 MEW系の in vivo 適用の検討	53
第1章 MEW系の in vitro/in vivo 差	55
第1節 In vitro/in vivo 差の検討に用いるモデルの構築	55
第2節 In vitro/in vivo 差およびその原因	56
第2章 本編の考察	62
結論	63
謝辞	66
実験の部	67
第1編 実験の部	67
第2編 実験の部	71
第3編 実験の部	74
引用文献	77

総論の部

序 論

薬物送達システム (Drug Delivery System, DDS) は薬物の放出や体内動態を制御して、薬物療法の最適化を行うことを目的とした薬剤である¹⁾。すでに、臨床的に汎用されている錠剤、カプセル剤あるいは注射剤の中にも、徐放化²⁻⁴⁾や病巣部への集積⁵⁾などのDDS技術が組み込まれ、新たな機能性が付与されているものもあり、DDS技術の進歩が薬物療法に変革をもたらすことは異論のないところと考えられる⁶⁻⁷⁾。経皮吸収型製剤 (Transdermal Delivery System, TDS) はこのようなDDSの研究・開発の中にあって、皮膚という投与経路に関連した種々長所を有する剤形として注目されている。すなわち、経口投与と異なり肝臓での初回通過代謝を回避でき、消化管への副作用がない。また、体外デバイスから薬物を供給するため、投与速度のコントロールが可能で、投与の中断が容易に行える。さらに、比較的簡便に一定の体内濃度が維持できるため薬物投与回数を減少させ、そのため、患者のコンプライアンスを改善することができる。そして、最も注目されるのは、経口投与不能患者に対して非侵襲的薬物療法が行える点である^{1), 8-10)}。そのため、初回通過代謝や消化管への副作用が強いために製剤化に至らなかった薬物に対する剤形として、また、既存の医薬品の剤形変更として期待される。しかしながら、皮膚は本来生体を保護するためのバリアーとしての機能を有するものであり¹¹⁾、生体異物である薬物がこれを容易に通過することはできず、全身性の薬効を発揮するのに必要な体内薬物濃度が得られるのは極めて稀である。一方、すでにTDSとして開発されている、スコポラミン¹²⁾、ニトログリセリン¹³⁾、硝酸イソソルビド¹⁴⁾、クロニジン¹⁵⁾、ニコチン¹⁶⁾、テストステロン¹⁷⁾は低融点、低分子量であり、皮膚最外層の角質層実質部分に分配・拡散しやすい。また、これらは少量で強い生理活性を有する。したがって、より一般的な薬物のTDS化を行うためには皮膚からの薬物吸収性を上昇させる方法が必須となる。経皮吸収促進法はこのような背景の基、TDS関連の研究の中でも重要な位置を占めている。

薬物の経皮吸収促進法は一般に、イオントフォレーシス¹⁸⁻¹⁹⁾、フォノフォレーシス²⁰⁾、エレクトロポレーション²¹⁾などの物理的方法と経皮吸収促進剤を

用いる化学的方法とに大別される²²⁾。物理的方法は電気や音のエネルギーを利用するため、これらの出力装置が必要であり、促進効果の理論的解明と併せて、装置についての研究が行われている。一方、促進剤を用いる化学的方法は物理的方法に比べ装置を必要としないため簡便であり研究・報告の数は多い。

経皮吸収促進剤の研究は1960年代に始まり、主としてジメチルスルホキシドに代表される溶媒²³⁾、界面活性剤²⁴⁻²⁵⁾、あるいは脂肪酸およびそのエステル類²⁶⁻²⁷⁾などの医薬品添加物が対象であった。80年代後半からは、さらに強い促進効果を求めて、1-dodecylazacycloheptane-2-one (Azone[®])²⁸⁻³⁰⁾、環状尿素誘導体³¹⁻³²⁾、あるいは合成高分子³³⁻³⁴⁾などの新たな促進剤が研究されるようになった。しかし、新規物質としての承認の問題を克服することが難しく、製剤応用に至った例はない。現在、TDSで利用されている代表的な経皮吸収促進剤はエストラジオール³⁵⁾ およびフェンタニール³⁶⁾ に対するエタノールである。

そこで、本研究は促進剤の併用に着目した。既に医薬品の添加物として安全性が確立されている物質の併用が強い促進効果を示す可能性は、幾つかの示唆的研究から十分に推測されていた³⁷⁻³⁹⁾。そこでまず、TDS化によるメリットが大きいと考えられる塩酸モルヒネ⁴⁰⁾ をモデル薬物として選択し、経皮吸収性上昇のための数種促進剤およびその併用効果について検討した(第1編, 第1章)。その結果、これまでの促進剤の効果をはるかに上回る強力な促進剤併用系、 ℓ -メントール-エタノール-水系(MEW系)を見出した。この興味ある促進系の研究は今後の促進剤の開発・応用に多くの有用な情報を与えると考え、以下、MEW系について詳細に検討した。すなわち、MEW系の適用拡大を目的として種々物性を有する汎用循環器官用薬に対する促進効果および促進特性を調べ(第1編, 第2, 3章)、次に、薬物の皮膚透過経路の最近の知見⁴¹⁾に基づき、皮膚を不均一な角質層とそれ以下の組織から成る2層膜と仮定したモデルを構築し、MEW系の経皮吸収促進機構を解析した(第2編, 第1章)。さらに、ヘアレスラットとヒト皮膚間に見られる作用の違いから、MEW系の皮膚構造に対する影響と促進効果との関係について論じ(第2編, 第2章)、最後に、in vitroから in vivoへと実験系を変えた場合の促進剤適用上の問題点について述べた(第3編)。以下得られた結果につき、3編に分けて論述する。

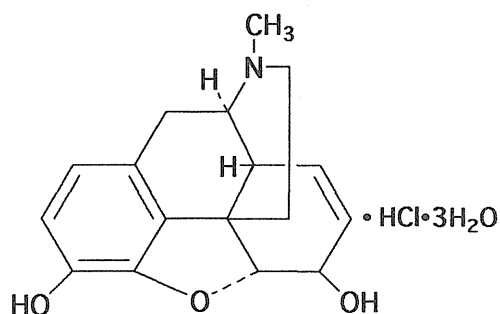
第1編 塩酸モルヒネおよび数種循環器官用薬に 対する ℓ -メントール-エタノール-水系 (MEW系)の経皮吸収促進効果^{42, 43)}

ヒトの表皮ではたえず増殖と分化が繰り返され、新しく生成された表皮細胞はひたすらに角化への分化を示す。その結果として角質層の新生と剥脱がおこる。角質層は厚さ約20 μ mの薄層であるが、ケラチン繊維を含有する偏平な角化細胞が緊密に重なり合い、その間隙は多数の脂質二重層がラメラ構造をなし、外来性異物から生体を保護するための強力なバリアーとしての機能を有している^{44, 45)}。そのため、経皮的に薬物を全身循環系に送達させるためには、先ず、この角質層をいかにして通過させるかが重要となる。一方、角質化とは細胞学的に細胞の死滅を意味し、角質層は死んだ細胞の集合体と見なすことが出来る。したがって、角質層の物質透過性の研究は摘出皮膚を用いた *in vitro* 実験により行われることが多い。

Barryは経皮吸収促進剤の促進機構と作用部位との関係について、独自の仮説を報告している^{46, 47)}。すなわち促進剤は、(1)角質層に浸透してその物質溶解性を変化させることにより分配性を上昇させるものと、(2)角質層細胞間脂質に入り込み、その配列を乱して角質層中の物質拡散性を上昇させるものとに分類することができると述べている。また、Horiらは有機概念図を用いて促進剤を Area I と Area II に分類し、異なるグループの促進剤の併用が効果を増強する可能性のあることを示唆している³⁹⁾。Barryの報告した、(1)の促進剤はエタノール、プロピレングリコール、N-メチルピロリドンなどに代表され、(2)の促進剤は Azone およびテルペン類などであるが、この分類はHoriらのArea I および II にそれぞれ対応している。さらに、具体的な例として、Azone と N-メチルピロリドンの併用が塩酸モルヒネ (MPH) の *in vitro* 皮膚透過性を著しく上昇させ、*in vivo* における薬理効果を増強することが、Sugibayashiらにより報告されている³⁸⁾。そこで、著者は先ず、これまでに知られている代表的促進剤とその併用系の促進効果を比較・検討した。

第1章 MPHの経皮吸収性に対する種々促進剤の効果

MPHは代表的麻薬性鎮痛薬で臨床的需要も高く、特に末期癌患者の疼痛管理には必須の薬物である⁴⁸⁾。現在、徐放錠、坐剤および注射剤などが用いられているが、徐放錠の使用量が年々増加している⁴⁹⁾。また、徐放化により少量で痛みのコントロールが可能になるという報告も見られる⁵⁰⁾。そこでMPHのTDS化が有用であると考え、これをモデル薬物とした。MPHは弱塩基の塩酸塩で、水溶性の高い薬物である。その構造式および物理化学的パラメーターをFig. 1に示す。促進剤には、*l*-メントール、Azone、モノカプリル酸グリセリド (Sefsol®-318 (S-318))⁵¹⁾、エタノール、Isopropylmyristate (IPM)の単独、および、これらの中から、*l*-メントールとエタノール、IPMとエタノールの併用系について試験した。各促進剤は既に数種薬物に対する効果が知られており、例えば、*l*-メントールはフルフェナム酸⁵²⁾およびジクロフェナクナトリウム⁵³⁾、Azoneは5-FU²⁹⁾およびMPH³⁸⁾、S-318は塩酸・ソパペリン⁵⁴⁾、エタノールはエストラジオール³⁵⁾およびフェンタニール³⁶⁾、IPMはニコランジル⁵⁵⁾などについて報告されている。前述したHoriらの分類では、エタノール、S-318はArea Iに、*l*-メントール、Azone、IPMはArea IIに属する促進剤である。Azone以外の促進剤は医薬品あるいは化粧品の添加物として認められているものである。なお、Azoneは促進効果を評価するためのpositive controlとした。また、対照(negative control)としてはMPH水溶液を用いた。Table I.に実験に用いたMPHおよび促進剤を含む適用液の組成を示す。



mol wt : 376
 mp : 200°C
 pKa : 9.85

Fig. 1. Chemical structure and physicochemical properties of morphine hydrochloride (MPH).

Table I. Donor Compositions Used in this Experiment

1% MPH in 5% l-menthol/water
1% MPH in 3% Azone/water
1% MPH in 5% S-318/water
1% MPH in 40% ethanol/water
1% MPH in 5% isopropyl myristate/water
1% MPH in 5% l-menthol/40% ethanol/water (MEW system)
1% MPH in 5% Isopropyl myristate/40% ethanol/water

皮膚透過実験は雄性ヘアレスラット腹部摘出皮膚および2-チャンバー拡散セルを用いる *in vitro* 法により行った^{5,6)}。透過実験の結果を Fig. 2 に示す。

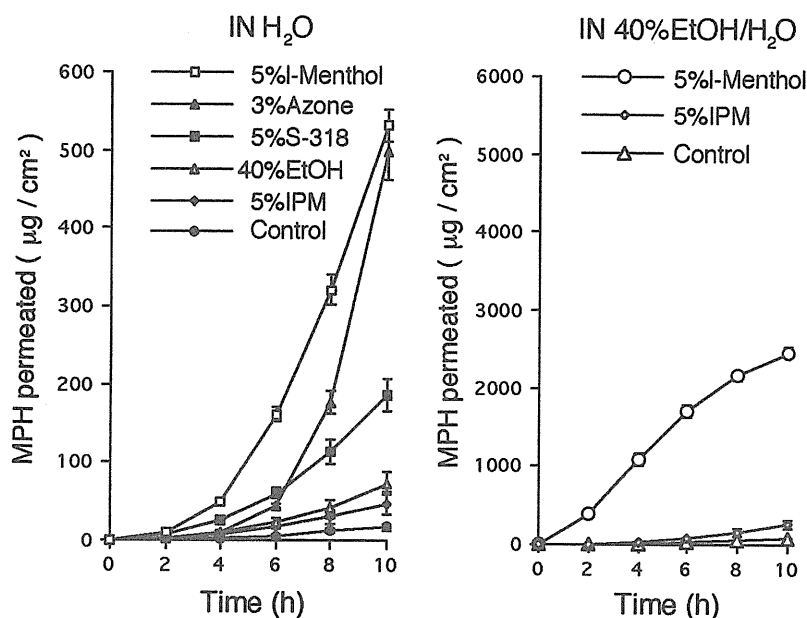


Fig. 2. Effect of several enhancers on the skin permeation of MPH.

Each point represents the mean and SE of three experiments.

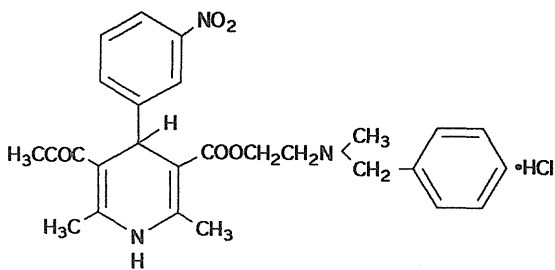
促進剤の単独使用時 (Fig. 2左) では、*l*-メントールと Azone がほぼ同様の強い効果を示したが、Azoneでは長いラグタイムが観察された。S-318にも比較的強い促進効果が認められたが、エタノールおよびIPMではその効果は弱いものであった。促進剤の併用系 (Fig. 2右) はその縦軸を単独使用時の10倍のスケールで示す。図から明らかなように、*l*-メントール+エタノールで極めて強い効果が認められた。各促進剤の効果を水溶液 (negative control) からのMPH累積透過量 ($17.1 \mu\text{g}/\text{cm}^2/10\text{h}$) に対する比 (促進比) として表し、比較すると、促進剤単独では、*l*-メントール ; 31.2, Azone ; 29.1, S-318 ; 10.9, エタノール ; 4.3, IPM ; 2.7となった。一方、促進剤併用系では、*l*-メントール+エタノール ; 144.4, IPM+エタノール ; 14.7, となり、*l*-メントールとエタノールの併用系、すなわちMEW系の促進効果は Sugibayashiらが Azone とN-メチルピロリドンとの

併用で得た促進効果³⁸⁾の約1.5倍で、過去に報告されたいかなる促進剤の効果をも上回るものであった。Azone は促進剤として有望であっても添加剤として承認されていないことを考えると、MEW系は実用的な促進剤として期待できると考えられた。すなわち、*l*-メントールはパップ剤やクリーム剤の成分として汎用されるものであり、エタノールはそれ自体医薬品として、また種々用途の医薬品添加物として広く使用されている。そこで次に、MEW系がMPH以外の他の薬物に対しても同様の効果を示すかについて検討した。

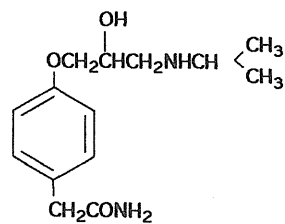
第2章 MEW系の数種循環器官用薬に対する 経皮吸収促進効果

TDS化によるメリットが大きい薬物に循環器官用薬がある。なぜならこれらは、血圧の上昇や心臓発作の出現を防ぐために、体内濃度を一定に保つことが必要である。循環器官用薬に持続性の経口剤が多い⁵⁷⁾のはこの理由による。そこでMEW系の適用拡大を目的として、本章では循環器官用薬を選択した。各薬物の構造式、分子量および略名を Fig. 3 に示す。NC、NFおよびNLはカルシウム拮抗剤、ATLは β ブロッカー、CPTはアンギオテンシン変換酵素阻害剤、そしてVINは脳循環代謝改善剤で、いずれも臨床で汎用されている薬である。

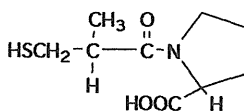
経皮吸収促進剤の効果を評価する方法としては、一般に、前章で行ったように、薬物の透過性上昇をコントロール基剤に対する比(促進比)として表す方法が用いられている。しかしながら、促進剤で達成された透過速度で経皮的に薬物を生体に投与したときに薬効が得られるか否かについては、体内からの消失速度も関係する。そこで本章では、各薬物のTDS化の可能性(Feasibility)を評価するための指標として、薬効を得るために必要な最小投与面積(A_{req})を新たに用いることとした。



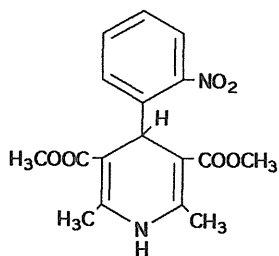
mol wt : 516
Nicardipine hydrochloride (NC)



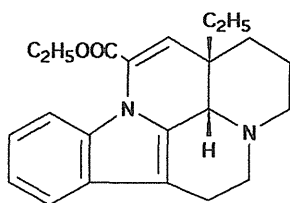
mol wt : 266
Atenolol (ATL)



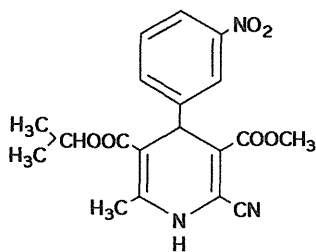
mol wt : 217
Captopril (CPT)



mol wt : 346
Nifedipine (NF)



mol wt : 350
Vinpocetine (VIN)



mol wt : 385
Nilvadipine (NL)

Fig. 3. Structures, molecular weight and abbreviations of drugs used in the experiment.

A_{req} は次の計算式により求めた。

$$A_{req} = (MEC \times CL_{tot}) / (P_c \times S) \quad (1)$$

ここで、 MEC は薬物の最小有効血中濃度、 CL_{tot} は薬物の全身クリアランス、 P_c は薬物の透過係数であり、 S は基剤（水あるいはMEW系）に対する薬物の溶解度である。(1)式右辺の分子($MEC \times CL_{tot}$)は有効血中濃度を得るために必要な薬物入力速度、同分母($P_c \times S$)は基剤に薬物を飽和させたときの単位面積当たりの皮膚透過速度、すなわち単位面積当たりの最大透過速度(J_{max})である。 A_{req} が小さいほど薬物の Feasibility は高くなる。

なお、本章では A_{req} による Feasibility 評価を妥当なものとするために、ヒトの胸部摘出皮膚を用いて in vitro 透過実験を行った。対照には水溶液あるいは水懸濁液を用いた。実験に供した各薬物およびその濃度は、1%NC溶液、1%ATL溶液、1%CPT溶液、3%NF懸濁液、1%VIN懸濁液および2%NL懸濁液である。

Fig. 4 に透過実験の結果を示す。Table II. には文献から得られる各薬物の MEC および CL_{tot} 、透過実験の結果得られた P_c 、37°CにおけるMEW系および水に対する溶解度の実測値、さらに J_{max} および A_{req} の計算値を示す。ただし、透過速度の算出には、Fig. 4 の12時間から24時間のグラフの傾きを用いた。その理由として、12時間以後であるならばラグタイム後であり、透過速度は定常に達していると考えられるためである。

Table II. の a) で示す値、すなわちCPTとVINの MEC ははっきりしなかったので常用量投与時の平均血中濃度を算出しこれを代用した。また、VINとNLでは CL_{tot} 値が示されていなかったため、文献に見られる血中濃度推移および他の薬物速度論的データから計算により求めた。

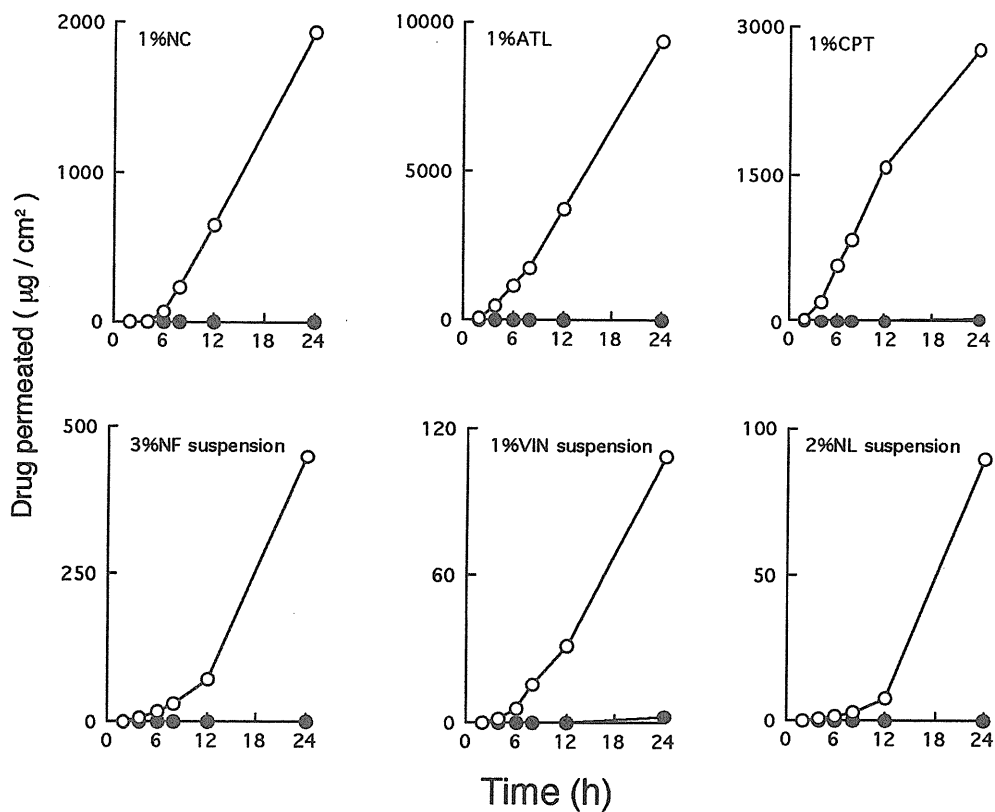


Fig. 4. Representative permeation profiles of drugs through human skin with two vehicles : water (closed) and MEW (open).

Table II. Pharmacokinetics, Permeation and Solubility Data
for Estimating A_{req}

	NC	ATL	CPT	NF	VIN	NL
MEC(ng/ml)	20	200	31 ^{a)}	15	0.8 ^{a)}	0.5
CL _{tot} (l/h)	23	11	48	27	43 ^{b)}	50 ^{b)}
Literature	58)	59, 60)	61)	62)	63, 64)	65, 66)
P_c (cm/s)						
Water	2.6×10^{-9}	5.3×10^{-9}	2.8×10^{-8}	5.6×10^{-6}	1.1×10^{-5}	1.3×10^{-6}
MEW system	3.0×10^{-6}	1.3×10^{-5}	2.8×10^{-6}	8.3×10^{-7}	1.3×10^{-6}	3.6×10^{-7}
Solubility ^{c)}						
Water	12.7mg	25.8mg	138mg	6.50 μ g	5.00 μ g	1.33 μ g
MEW system	319mg	267mg	992mg	10.4mg	1.39mg	5.23mg
J_{max} (μ g/h/cm ²)						
Water	0.12	0.49	13.8	0.13	0.20	0.006
MEW system	3400	12440	10049	31.2	6.45	6.84
A_{req} (cm ²)						
Water	3966	4569	109.2	3120	169.6	4018
MEW system	0.14	0.18	0.15	13.0	5.3	3.7

a) Mean plasma concentration with ordinary dosing.

b) Estimated value.

c) mg/ml or μ g/ml.

MEW系はMPHに用いた場合と同様、6種循環器官用薬に対しても強力な促進効果を示した (Fig. 4)。さらに得られた A_{req} はいずれの薬物においても、皮膚に適用する面積として十分に小さな値であった。市販TDS製剤であるフランドル®テープS (トーアエイヨー, 硝酸イソソルビド含有) は 40cm^2 , ニトロダームTTS® (日本チバガイキー, ニトログリセリン含有) は 10cm^2 である。フランドルテープSはやや大きめではあるものの、概ね、この大きさ以下であれば実用上問題はないと考えられる。しかしながら、ここで得られた A_{req} は摘出皮膚に対して促進剤と薬物を溶液状態で攪拌しながら適用した場合のものである。実際の製剤では、ゲル化のための高分子やテープ基剤、さらには粘着剤等が添加されている。また、攪拌された条件ではないので基剤中の薬物拡散性も考慮に入れなければならない。そこで、NCをモデル薬物とし、ヒドロキシプロピルセルロース(150~400cps)を10%の濃度でMEW系に添加し、ヒト皮膚および縦型セルを用いて、非攪拌条件でNCの皮膚透過速度を測定したところ、 A_{req} は Table IIに示した値の約7倍まで増加した。しかし、かりに製剤化に伴い、 A_{req} が100倍に増加しても、NC, ATLおよびCPTでは製剤の大きさを 40cm^2 以下に保つことが可能である。

次に、薬物ごとにTDS化の Feasibility を A_{req} で比較すると、NC, ATL, CPT の Feasibility は高く、これに比べて他の薬物, NF, VIN, NLは低かった。水に対する溶解度から明らかなように、前者は比較的水に溶けやすく、後者は溶けにくい薬物である。このことから、MEW系の促進剤としての特徴が薬物の溶解性や極性に関係していることが示唆された。そこで、その特徴について検討した。

第3章 MEW系の作用の特徴

皮膚を均一な一層と仮定したとき、定常状態における薬物の皮膚透過速度、 dQ/dt は Fick の第1法則を用いて、次式で表される⁶⁷⁾。

$$\frac{dQ}{dt} = \frac{KC_vDA}{L} \quad (2)$$

ここで、 K は薬物の基剤と皮膚間の分配係数（皮膚／基剤）， C_v は基剤中の薬物濃度， D は薬物の皮膚中拡散係数， A は薬物の透過面積，そして L は皮膚の厚みである。 dQ/dt を C_v および A で除し，皮膚透過速度を単位濃度・単位面積当たりの値としたものが，前章で示した P_c である。すなわち， P_c は D および K に比例し， L に反比例する。

$$P_c = KD/L \quad (3)$$

L は同一の実験動物を用いた実験系では大きく変化することはない。また， D は同一の（拡散）媒体中では，分子量（ M ）の関数として表すことが可能で次の式で示される⁶⁸⁾。

$$\log D = -C_1 \times \log M + C_2 \quad (4)$$

ここで， C_1 および C_2 は定数である。すなわち， M のほぼ等しい薬物を用いて透過実験を行い， P_c を算出して K に対してプロットを行えば一定の関係が得られるはずである。Hatanakaらはヘアレスラット摘出皮膚および17種類の薬物を用いて *in vitro* 透過実験を行い，水基剤からの薬物皮膚透過性は次の経験式で予測されることを報告した⁴¹⁾。

$$P_c = 4.78 \times 10^{-7} K_{ow}^{0.589} + 8.33 \times 10^{-8} \quad (5)$$

ここで P_c の単位は cm/s , K_{ow} はオクタノール／水分配係数である。分配係数として K_{ow} を使用しているのは、一般に角質層はオクタノール程度の脂溶性を有する膜と考えられているためである⁶⁹⁾。また、 K_{ow} は理論上、オクタノールと水に対する薬物の溶解度比と考えられるため、(5)式ではこの比が用いられている。そこで、(5)式で表されるグラフを示し、この座標上にこれまで扱って来た7種薬物のデータをプロットし、水基剤からMEW系へと基剤を変更した場合の各点の移動から、MEW系の特徴の概略をつかむこととした。ただし、(5)式はヘアレスラット腹部摘出皮膚を用いた実験結果から導いたものであるため、前章のヒト胸部皮膚を用いた実験とで種差が懸念される。そのため6種循環器官用薬については、ヘアレスラット腹部摘出皮膚の実験も行い、 P_c を求めた。また、オクタノール／基剤分配係数を算出するために、各薬物のオクタノールに対する溶解度を測定した。Table IIIにラットでの P_c 、オクタノール／水 および オクタノール／MEW系分配係数の対数値を示す。さらに、Table IIIの値を Fig. 5 として示した。

Table III. Permeability Coefficient via Hairless Rat Skin and Octanol/Vehicle Partition Coefficient of Drugs

	MPH	NC	ATL	CPT	NF	VIN	NL
log P_c (cm/s)							
Water	-7.4	-7.6	-6.6	-7.0	-3.8	-5.1	-5.2
MEW system	-5.4	-5.6	-5.1	-5.1	-5.2	-5.6	-5.7
log K							
O/W	-2.53	-0.99	-0.30	0.18	3.35	3.56	4.15
O/MEW	-2.63	-2.39	-1.32	-0.68	0.14	1.12	0.53

O/W : Octanol/water partition coefficient.

O/MEW : Octanol/MEW system partition coefficient.

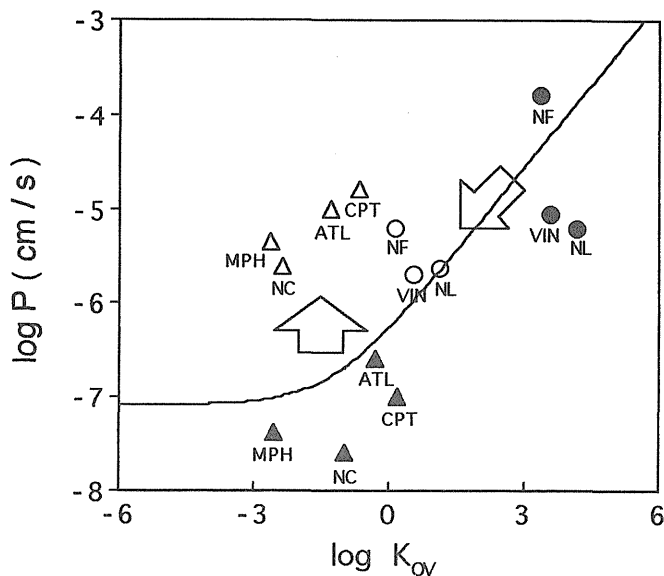


Fig. 5. Change in relation between partition coefficient and permeability coefficient by alteration of vehicle from water (closed) to MEW (open).

Circles, lipophilic drug ; triangles, hydrophilic drug ; solid line, regression curve reported by Hatanaka et. al.

Fig. 5 の closed シンボルは水基剤, open シンボルはMEW系基剤を示している。水溶性あるいは水に易溶性の薬物 (MPH, NC, ATL, CPT, 以下, 水溶性) を三角, 脂溶性の薬物 (NF, VIN, NL) を丸で表した。グラフ中の曲線は (5) 式を示したものである。水基剤を用いたときのシンボル (closed) は比較的曲線の周辺に散在しているが, 基剤をMEW系にしたシンボル (open) はグラフの中央に集まっている。すなわち, このグラフからMEW系は水基剤に比べ, つぎの作用のあることが明確になった。

- ①水溶性薬物の P_c を大きく増加させる。
- ②脂溶性薬物の P_c を減少させる。
- ③水溶性薬物の K をわずかに低下させる。
- ④脂溶性薬物の K を著しく低下させる。

さらにMEW系の特徴として、⑤水基剤に比べ水溶性薬物の溶解度を数倍から数十倍、脂溶性薬物では数千倍に上昇させることがあげられる (Table II)。これらの結果をさらに、次式を用いて考察する。

$$J_{\max} = P_c \times S = \frac{SOL_s / SOL_v \times D}{L} \times S \quad (6)$$

ここで、 SOL_s および SOL_v はそれぞれ皮膚および基剤中の薬物溶解度である。基剤が皮膚に影響を及ぼさないと仮定すると SOL_s / SOL_v は薬物の基剤／皮膚分配係数 K と見なすことができ⁷⁰⁾、また、 SOL_s および D は基剤とは無関係に皮膚と薬物の性質で決まる値である。MEW系は⑤の特徴から、 SOL_v を上昇させるため P_c を減少させるはずであるが ((6) 式) , その実測値は水溶性薬物で増加し脂溶性薬物で減少した (①, ②)。(6) 式の SOL_v は S と置き換えられるから、(6) 式は次式になる。

$$J_{\max} = SOL_s \times D / L \quad (7)$$

すなわち、基剤中の薬物溶解度 (SOL_v および S) の上昇と低下は K (SOL_s / SOL_v) の減少および増加となって反映され、両者の積は一定で SOL_s になる。 P_c は DK / L であるので、脂溶性薬物のように、 S の上昇が P_c の減少を招くことは、むしろ理にかなっている。一方、水溶性薬物で S も P_c も増加するのは、MEW系が、これらの薬物の透過亢進につながる、なんらかの作用を有しているためである。

前述したように、それ自体の溶解度が高い基剤で水溶性薬物を皮膚に適用した場合、その薬物の皮膚への分配性は低下する。それにもかかわらず、薬物の透過性が上昇するのは、基剤 (溶媒) の皮膚への移動、あるいは溶媒の皮膚透過 (浸透) によって薬物がけん引されること (Solvent drag)⁷¹⁾ などが考えられ

る。そこで、MPHをモデル薬物とし、4種の基剤、すなわち、水（W）、5%ℓ-メントール／水（MW）、40%エタノール（EW）およびMEW系（MEW）を用いて透過実験を行い、水、エタノールおよびℓ-メントールの透過量を測定した。なお、測定の簡便化のために水としてD₂O、エタノールとしてエタノール-d₆（EtOD）をそれぞれ代用し、赤外分光光度計およびガスクロマトグラフを用いて測定した。

Fig. 6 には4種基剤からのMPH皮膚透過量を示す。これは、溶媒の透過とMPHの透過とを比較できるようにするために Fig. 2 から抜粋したものである。Fig. 7 はD₂Oの累積透過量であるが、MPH同様、そのランクオーダーは、MEW>MW>EW>Wであった。EtOD およびℓ-メントールについても、それぞれ、MEW>EW（Fig. 8）および MEW>MW（Fig. 9）であった。この結果から、まず、溶媒の流れがMPHの透過性に寄与のあることが強く示唆された。次に、MWを基剤としたときに、D₂Oおよびℓ-メントールの透過プロファイルにラグタイムが認められるのに対し、MEWではそれが無いことが注目される（Fig. 7 および 9）。MEWとMWの違いはエタノールを含むか否かであるので、ラグタイムの違いはエタノールの作用に起因するものと考えられる。Fig. 8 で示されるように、EWに比べMEWではエタノールの透過が促進されることから、ℓ-メントールがこの作用を示したものと考えられる。すなわち、MEWではℓ-メントールの作用により角質層中へのエタノールの浸透が速く、その結果、角質層へD₂Oおよびℓ-メントールが分配・拡散しやすくなり、ラグタイムが認められないものと考えられた。

以上をまとめると、MEW系の促進効果について、次のような仮説を立てることができる。①ℓ-メントールがエタノールの透過を促進するため、角質層へのエタノールの浸透量および浸透速度が増加し、その結果、②ℓ-メントールや薬物（特に水溶性薬物）が角質層に分配しやすくなる。次に、③ℓ-メントールが角質層中の透過抵抗を減少させ、溶媒および薬物の透過が亢進する。

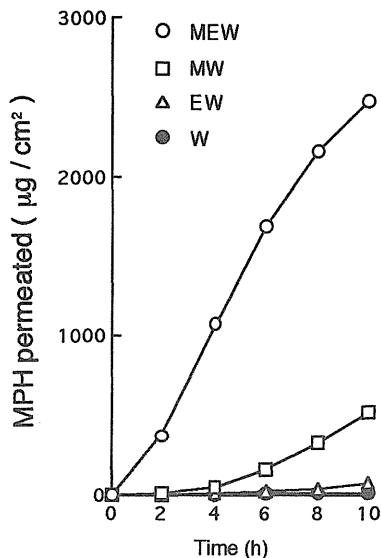


Fig. 6. Effect of several enhancing systems on the skin permeation of MPH.

Each value represents the mean of three experiments. Each SE is contained in each symbol.

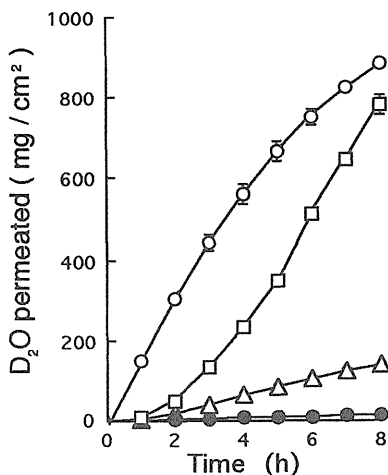


Fig. 7. Effect of several enhancing systems on the skin permeation of D₂O.

Each point represents the mean and SE of three experiments. (O) 5% l-menthol / 40% EtOD / D₂O, (□) 5% l-menthol / D₂O, (Δ) 40% EtOD / D₂O, (●) D₂O.

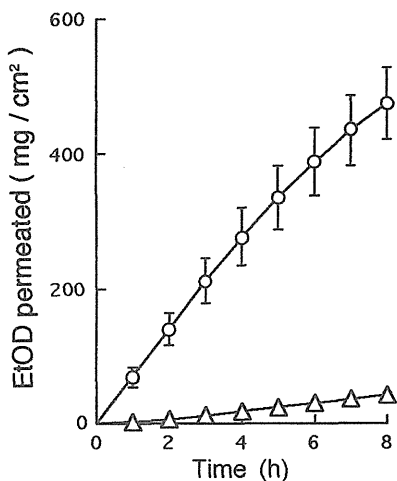


Fig. 8. Effect of several enhancing systems on the skin permeation of EtOD.

Each point represents the mean and SE of three experiments. (O) 5% l-menthol / 40% EtOD / D₂O, (Δ) 40% EtOD / D₂O.

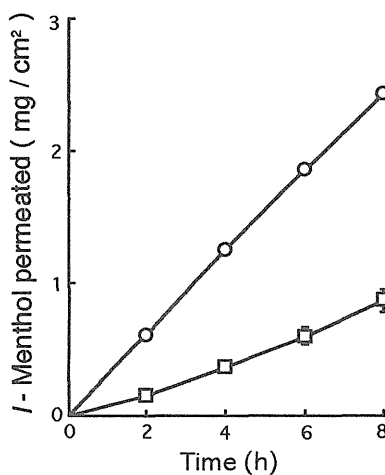


Fig. 9. Effect of EtOH on the skin permeation of l-menthol.

Each point represents the mean and SE of three experiments. (O) 5% l-menthol / 40% ethanol / H₂O, (□) 5% l-menthol / H₂O.

第4章 本編の考察

MEW系の強力な促進効果は、それぞれ異なる促進作用を有する ℓ -メントールとエタノールが相乗的にその効果を発揮したために得られたものであると考えられた。しかし、作用の異なるものの併用がすべて相乗作用を示すかについては疑問である。そこでMEW系の組成について考察を加える。

40%エタノール水溶液に対する ℓ -メントールの溶解度は約4%であった。MEW系は5%であるので、わずかに ℓ -メントールが乳濁していることになり、基剤中での ℓ -メントールの熱力学的活量は最大で、角質層への分配性が最も高い状態にある。 ℓ -メントールは角質層中に入り込むことで作用を示すと考えられているため⁴⁷⁾、この活量を最大にすることが高い促進効果、さらには相乗効果を得るためには必須と考えられた⁷²⁾。一方、薬物であるMPHについては、40%エタノール水溶液においてコンソルベンシーが観察された (Fig. 10)。このことは、40%のとき、他の組成に比べ、MPHの活量が最も低いことを意味し、角質層に分配しにくいことになる。しかし、溶媒が薬物をけん引するような透過の場合にはむしろ好適な条件となる。溶媒けん引は、薬物が分配・拡散することによって透過する膜では起きにくい現象で、一般には、薬物分子の大きさを上回る細孔が存在する膜で見られる現象である⁷³⁾。仮に、MEW系の適用により細孔の形成あるいは、細孔を介しての透過の寄与が上昇する場合、本組成に妥当性のあることが認められる。このことに関しては次編以降で詳細に検討する。次に、MEW系の促進効果と組成に関連する考え方にCohenらのPush-Pull効果^{74), 75)}がある。基剤中の溶媒の移動により経時的に薬物の溶解度が低くなり、その活量が上昇して皮膚へ分配しやすくなる現象をPush効果、一方、溶媒の移動により皮膚側の薬物溶解度が高くなり、皮膚への分配性が上昇する現象をPull効果と呼ぶ。MEW系の場合、その組成として、水とエタノールが含有されるが、水に比べエタノールの方が、ドナー、レシーバー間の濃度勾配は大きい。そのため、エタノールの皮膚透過に伴うPush-Pull効果が促進効果に寄与していることが推定される。

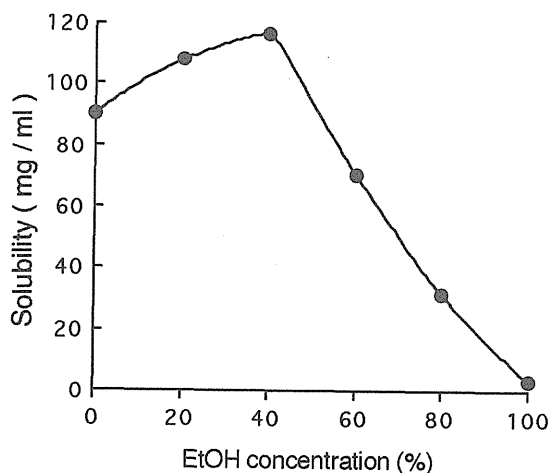


Fig. 10. Effect of ethanol concentration on the solubility of MPH in the system.

最後にMEW系の促進効果がヘアレスラットとヒト皮膚とで異なる現象について述べる。本編では6種循環器官用薬の Feasibility の検討にはヒト皮膚を用い、MEW系の作用の特徴の検討にはヘアレスラット皮膚を用いた(Fig. 11)。ヒト皮膚では作用が出にくく、ラグタイムが存在する。MEW系の促進機構と皮膚構造とに関連する現象と考えられるため、次編以降で検討する。

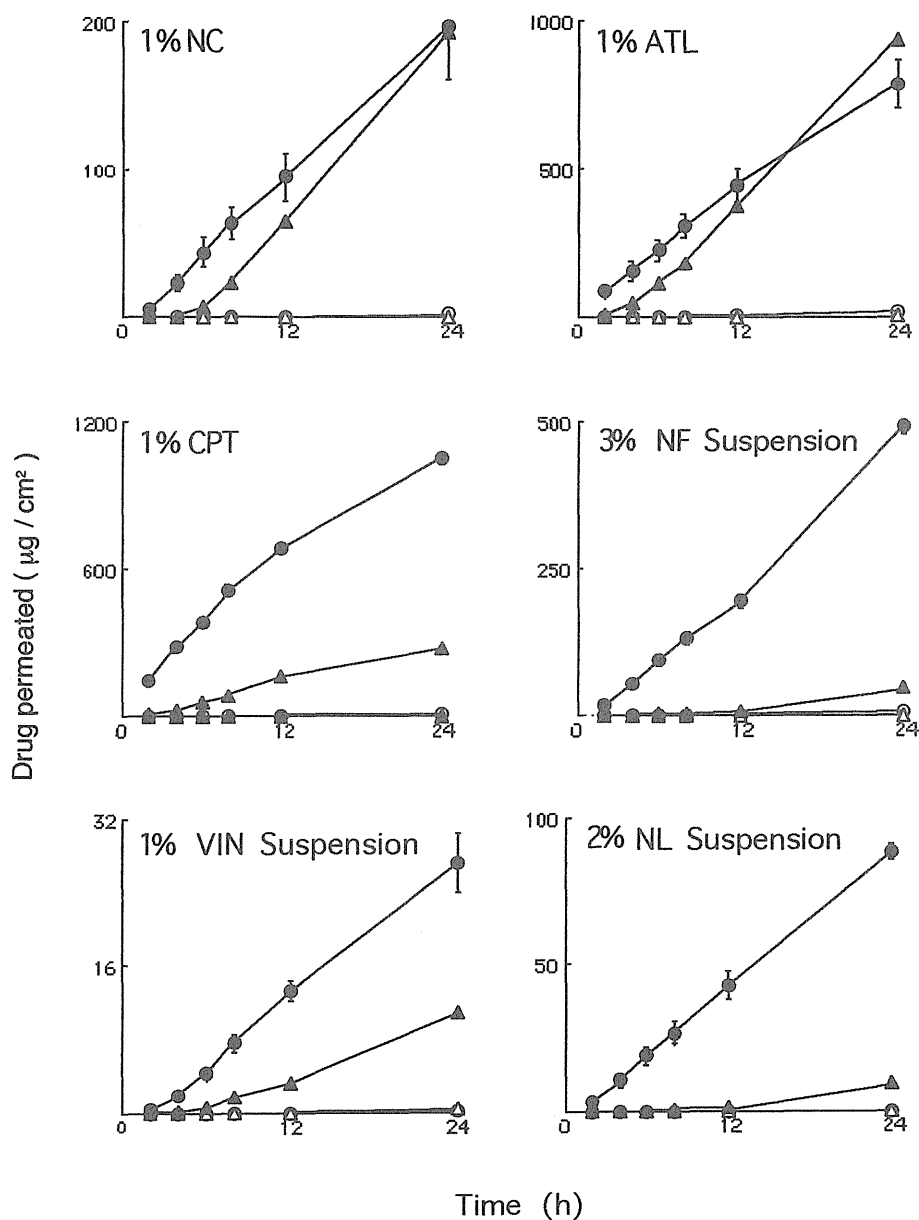


Fig. 11. Permeation profiles of drugs through hairless rat (circles) and human skin (triangles) with two vehicles : water (○, △) and M-E (●, ▲).

In the experiment with hairless rat skin, each point represents the mean and SE of 3 experiments.

第2編 MEW系の経皮吸収促進機構^{76, 77)}

経皮吸収促進剤の作用機構を研究することは、合理的な促進剤の設計・開発、さらには、優れたTDSの製剤開発に有用である⁷⁸⁾。事実、MEW系にしても、異なるタイプの促進剤として分類された ℓ -メントールとエタノールの併用の結果得られたものである。これまでに、数多くの促進剤の作用機構についての研究・報告がある。これらの中には、促進された皮膚透過速度を単純にFickの第1法則((2)式)を用いて評価し、皮膚への薬物分配性の上昇あるいは、皮膚中での薬物拡散性の上昇としてとらえるものから^{79, 80)}、促進剤による角質層脂質の流動性変化を、熱分析^{46, 47)}や赤外吸収スペクトルの手法⁸¹⁻⁸³⁾を用いて解析するものまで、多岐にわたる。しかし、促進剤によって修飾された、基剤-皮膚間の相互関係を、実態に近い形で、定量的に検討しているものは少ない。そこで、著者はこれまでに言われている促進剤の種々作用を定量的に表現できるような皮膚のモデル化を考え、このモデルに基づいて薬物の皮膚透過速度ならびに薬物の皮膚/基剤分配を表現する式を誘導した。そして、このモデルおよび式を用いて、 ℓ -メントール、エタノールおよびMEW系の作用を定量的に解析し、これによってもたらされた皮膚の変化を考察した。さらにMEW系の促進効果がヘアレスラットとヒト皮膚とで異なることに着目し、その効果の違いを角質層のバリアー能の相違に起因する現象と考え、促進機構解析の一環として検討した。

第1章 皮膚2層膜モデルに基づく 経皮吸収促進機構の解析

第1節 促進機構解析のための物理化学モデルの構築

経皮吸収促進剤の作用の特徴を定量的に評価するためには、その作用を分類、整理し、これらと、薬物の皮膚透過速度ならびに皮膚への薬物分配性とを関連付ける必要がある。まず、文献に見られる促進剤の作用を分類すると、①熱力

学的観点からのもので、基剤から皮膚への薬物分配性を上昇させる作用、②皮膚の構造および組成を変化させて皮膚透過速度を上昇させる作用、に大別される⁸⁴⁾。薬物の基剤から皮膚への分配性は、促進剤および基剤が皮膚に影響を及ぼさないと仮定すると、薬物の基剤および皮膚に対する溶解度のみで決まり、薬物が基剤に飽和濃度以上で存在する条件では、基剤の種類とは無関係に薬物の皮膚中濃度は最大値に達する²²⁾。このことは、皮膚への薬物分配性は基剤に仕込んだ薬物濃度とその基剤に対する薬物の飽和溶解度との比のみに支配されていることを示すもので、促進剤が皮膚への影響なしに、皮膚の薬物溶解度以上に薬物を分配させることが不可能であることを意味する。促進剤の作用により薬物の皮膚中濃度が上昇しその結果薬物の皮膚透過速度が上昇したと考えられるならば、それは促進剤が皮膚に影響して、皮膚の薬物溶解性を変化させたためである。そこで、この皮膚／基剤間の分配性の変化を線形自由エネルギー相関⁸⁵⁾に基づいて次式で表すこととした。

$$K = A K_{ov}^B \quad (8)$$

ここで、 K は角質層実質部分と基剤間の真の薬物分配係数、 K_{ov} はオクタノールおよび基剤間の薬物溶解度比、 A および B は皮膚と基剤の相互作用の結果決まる係数である。なお前編でも述べたように、角質層の極性はオクタノールにほぼ近いものであると認識されている。Pittらは物質のオクタノール／水分配係数とポリマー／水分配係数との関係を上式を用いて表し、 A および B を求め、 A はポリマー中への基剤の移動の程度を（ A の値が大きいほど移動の程度が大きい）、 B はポリマーの極性変化を表す（ B の値が大きくなると極性が低下する）係数であると報告している⁸⁶⁾。また、Andersonらは本式をFickの拡散の式に組み込み薬物皮膚透過性をオクタノール／水分配係数から説明できることを報告している⁸⁷⁾。本編において著者は促進剤の作用によって薬物の分配性が変化する場合、この A および B が変化するものであると仮定した。次に促進剤の皮膚構造あるいは組成に対する影響に関する報告を整理してみると、角質層脂質の流動性上昇^{88, 89)}および脱脂または角質層蛋白質を変成^{82, 90)}させること

により pore (空隙)の形成^{9,11)}を増加させるものと分けられる。前者は薬物の角質層中拡散性、後者は、角質層全体に占める pore の割合の変化としてとらえることができる。以上を要約すると、Hatanakaらが薬物の皮膚透過性を予測するために用いた(9)式^{4,11)}をそのまま促進剤作用の定量的評価に利用できる。

$$P_c = (1 - \varepsilon) A K_{ow}^B D_L / L + \varepsilon D_P / L \quad (9)$$

ここで、 P_c は薬物の角質層透過係数、 ε は空隙率で、基剤と接触する角質層表面に占める pore の面積比率、 D_L は角質層実質部分での薬物拡散係数、 D_P は pore 中での薬物拡散係数、 L は角質層の厚みである。なお、本式において pore は基剤がそのまま浸透できる空隙と仮定するため、分配係数は”1”であり、右辺第2項に分配係数は存在しない。ここで、便宜的に角質層の薬物透過経路を lipid pathway (右辺第1項)および pore pathway と呼ぶことにする。一般に、lipid pathway は角質層細胞間の脂質二重層の非極性部分(アシル鎖)、pore pathway は極性部分(polar head)および汗腺や皮脂腺あるいは毛根といった経付属器官 pathway と考えられている^{44, 46)}。そのため、本式は皮膚の薬物透過バリアーである角質層の構造を反映したものと考えられる。すなわち、促進剤の作用は本式の ε , A , B , D_L , D_P を変化させ、その結果薬物の角質層透過性 P_c を上昇させるものであると考えることができる。また、本式の K_{ow} は薬物そのものの性質であるため促進剤の影響を受けず、促進剤存在下、種々極性の薬物を用いて透過実験を行い、 P_c の変化を観察することで、式中パラメーター (ε , A , B , D_L , D_P) の変動を推定することができる。さらにこの K_{ow} をオクタノール/基剤分配係数、 K_{ov} で置き換えても式の性格は変わらず、そうすることにより、促進剤を含む種々基剤に対して適用が可能となる。しかし、 A および D_L については、式中、積の形としてのみ存在するため(いわゆるハイブリッドパラメータとなるため)、両パラメーターを独立に算出することは不可能である。 A は分配性の変化、 D_L は拡散性の変化を意味する全く異なる性質のパラメーターである。本式の範囲でこの両者を別々に求めるためには lipid pathway 中への薬物分配($A K_{ov}^B$)を知ることが必要で、実験として

は角質層中の薬物濃度を測定しなければならない。しかし、角質層は厚さ約15 μ mの薄膜であり、薬物が透過している時点におけるこの部位の薬物濃度測定は困難である。そこで、現実的に測定が可能である皮膚全層中濃度を用いることを前提として、皮膚を角質層とその下層の組織である、生きた表皮および真皮から成る2層膜として取り扱うこととした。そのモデルを Fig. 12 に示す。

Fig. 12 a は透過抵抗に基づく2層膜の皮膚モデル、同 b は分配拡散に基づくモデルである。両モデルは同一の薬物透過経路を有し、等しく透過速度を表現できる。第1層めの角質層はHatanakaらのモデルに従った。すなわち、第2層めは生きた表皮および真皮で、 ϵ_{ED} の空隙率を有する均一な膜と仮定した。ただし、ここで各記号は、C:濃度、P:透過係数、K:分配係数、D:拡散係数、L:厚み、 ϵ :空隙率、下つき文字はそれぞれ、V:基剤、FT:皮膚全層、SC:角質層、ED:生きた表皮および真皮、L:lipid pathway、P:pore pathway、である。まず、皮膚全層を通過する薬物の透過係数 P_{FT} の式を誘導する。

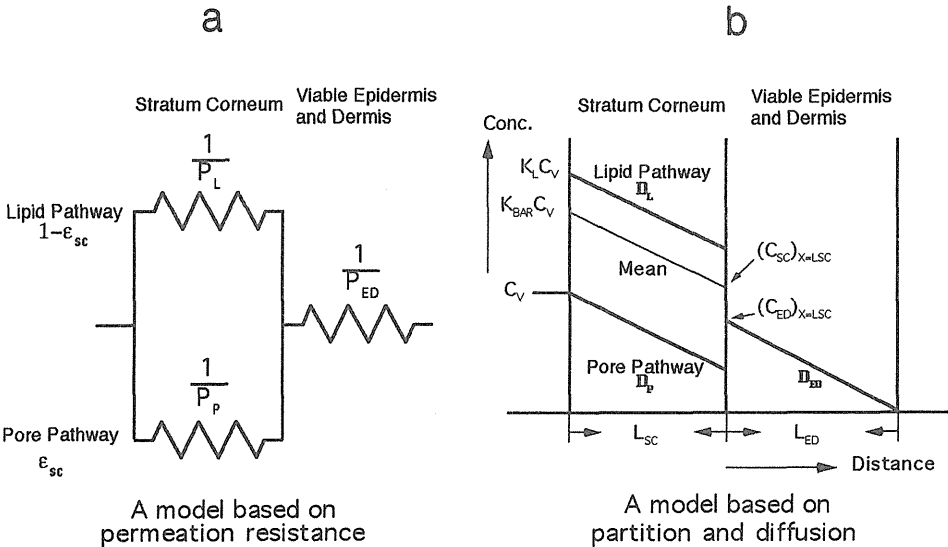


Fig. 12. Schematic diagram of the two-layer skin model.

Fig. 12 a から

$$1/P_{FT} = 1/P_{SC} + 1/P_{ED} \quad (10)$$

となる。 P_{SC} は (3) および (9) 式から、

$$P_{SC} = (1 - \epsilon_{SC}) AK_{OV}^B D_L / L_{SC} + \epsilon_{SC} D_P / L_{SC} \quad (11)$$

になる。生きた表皮および真皮はスポンジ様の多孔性水性ゲル⁹¹⁾ と考えることが可能であるため、 P_{ED} は同様に、

$$P_{ED} = \epsilon_{ED} D_{ED} / L_{ED} \quad (12)$$

とおける。 (11) および (12) 式を (10) 式に代入し整理すると P_{FT} についての次式が得られる。

$$P_{FT} = \frac{[(1 - \epsilon_{SC}) AK_{OV}^B D_L + \epsilon_{SC} D_P] \epsilon_{ED} D_{ED}}{L_{ED} [(1 - \epsilon_{SC}) AK_{OV}^B D_L + \epsilon_{SC} D_P] + L_{SC} \epsilon_{ED} D_{ED}} \quad (13)$$

次に、皮膚全層と基剤間の薬物濃度比を求める式を誘導する。 Fig. 1 b から、薬物の透過が定常状態に達し、シンク条件が保たれるならば、見かけの皮膚全層/基剤分配係数 K_{BAR} は、

$$K_{BAR} = (1 - \epsilon_{SC}) K_L + \epsilon_{SC} \quad (14)$$

となる。定常状態において、境界条件 $X = L_{SC}$ では、

$$\frac{D_{BAR}}{L_{SC}} [C_V K_{BAR} - (C_{SC})_{X=L_{SC}}] = \frac{D_{ED} (C_{ED})_{X=L_{SC}}}{L_{ED}} \quad (15)$$

となる。ここで、 D_{BAR} は lipid および pore pathway の両者を含む角質層中

の見かけの拡散係数である。

生きた表皮および真皮/角質層の見かけの分配係数 K' は,

$$K' = (C_{ED})_{X=L_{sc}} / (C_{SC})_{X=L_{sc}} \quad (16)$$

となる。(16) 式の関係を用い, (14) 式を (15) 式に代入すると,

$$(C_{SC})_{X=L_{sc}} = \frac{C_v (D_{BAR}/L_{sc}) [(1 - \epsilon_{sc}) K_L + \epsilon_{sc}]}{[(D_{ED}K' / L_{ED}) + (D_{BAR}/L_{sc})]} \quad (17)$$

となる。 $P_{SC} = D_{BAR}K_{BAR}/L_{SC}$ であるのでこれに (14) 式を代入すると,

$$P_{SC} = D_{BAR} [(1 - \epsilon_{sc}) K_L + \epsilon_{sc}] / L_{sc} \quad (18)$$

となる。また, P_{SC} は (11) 式と線形自由エネルギー相関から,

$$P_{SC} = [(1 - \epsilon_{sc}) D_L K_L + \epsilon_{sc} D_P] / L_{sc} \quad (19)$$

となり, (18) および (19) 式から D_{BAR} は,

$$D_{BAR} = \frac{(1 - \epsilon_{sc}) D_L K_L + \epsilon_{sc} D_P}{(1 - \epsilon_{sc}) K_L + \epsilon_{sc}} \quad (20)$$

となる。(20) 式を (17) 式に代入し, $K_L = A K_{OV}^B$ の関係を用いると,

$$(C_{SC})_{X=L_{sc}} = \frac{L_{ED} C_v [(1 - \epsilon_{sc}) D_L A K_{OV}^B + \epsilon_{sc} D_P]}{L_{ED} [\{(1 - \epsilon_{sc}) D_L A K_{OV}^B + \epsilon_{sc} D_P\} / \{(1 - \epsilon_{sc}) A K_{OV}^B + \epsilon_{sc}\}] + L_{sc} D_{ED} K'} \quad (21)$$

のように示される。 $(C_{SC})_{X=L_{SC}}$ を用いると、角質層および生きた表皮および真皮中濃度はそれぞれ、次のようになる。

$$C_{SC} = 1/2 [C_V \{ (1 - \varepsilon_{SC}) AK_{OV}^B + \varepsilon_{SC} \} + (C_{SC})_{X=L_{SC}}] \quad (22)$$

$$C_{ED} = 1/2 \{ K' (C_{SC})_{X=L_{SC}} \} \quad (23)$$

一方、皮膚全層中濃度は、次式で示される。

$$C_{FT} = C_{SC} L_{SC} / (L_{SC} + L_{ED}) + C_{ED} L_{ED} / (L_{SC} + L_{ED}) \quad (24)$$

生きた表皮および真皮は多孔性水性ゲルであり、レシーバー中の溶媒およびドナーから移動した溶媒を抱え込んだ相と考えられるため、 K' は角質層／基剤分配係数の逆数と仮定でき、次式となる。

$$K' = \varepsilon_{ED} / K_{BAR} = \varepsilon_{ED} / [(1 - \varepsilon_{SC}) AK_{OV}^B + \varepsilon_{SC}] \quad (25)$$

(21) から (23) 式および (25) 式を (24) 式に次々に代入すると、 C_{FT}/C_V は以下のようになる。

$$\frac{C_{FT}}{C_V} = \frac{1}{2(L_{SC} + L_{ED})} L_{SC} (1 - \varepsilon_{SC}) AK_{OV}^B + \varepsilon_{SC} + \frac{L_{ED} \{ (1 - \varepsilon_{SC}) AK_{OV}^B D_L + \varepsilon_{SC} D_P \} \{ (1 - \varepsilon_{SC}) AK_{OV}^B + \varepsilon_{SC} + L_{ED} \varepsilon_{ED} \}}{L_{ED} \{ (1 - \varepsilon_{SC}) AK_{OV}^B D_L + \varepsilon_{SC} D_P \} + L_{SC} D_{ED} \varepsilon_{ED}} \quad (26)$$

2層膜モデルに基づいて、薬物の透過係数 P_{FT} および皮膚全層と基剤間の薬物濃度比 C_{FT}/C_V がそれぞれ (13) 式および (26) 式によって表された。両式とも、先に仮定した、促進剤の作用によって変化するパラメーター、 A , B ,

D_L , D_P , ε_{sc} および薬物そのものの性質である K_{ov} のほかに, D_{ED} , ε_{ED} , L_{sc} , L_{ED} の合計10種の変数を含む関数である。 L_{sc} と L_{ED} は角質層および生きた表皮および真皮の厚みであるから, 促進剤を適用しても変化することはないと考えられ, 定数として置くことが可能である。ヘアレスラットの L_{sc} は文献に記載が見られ⁹²⁾ $15.4\mu\text{m}$ である。 L_{ED} はヘアレスラットの摘出皮膚をノギスで測定し ($735\pm 74\mu\text{m}$, $n=25$), この値から角質層の厚みを引いて約 $720\mu\text{m}$ とした。また, ε_{ED} は促進剤の影響を受けにくいものと考えられるため定数として取り扱うこととし計算により求めた。 $\varepsilon_{ED}=L_{ED}P_{ED}/D_{ED}$ であるので P_{ED} および D_{ED} の値が必要である。Ghanemらは, ヘアレスマウスのストリプトスキンを通しての薬物の透過係数はその極性によらず一定であると報告している⁹¹⁾。同様のことはヘアレスラットでも成り立つと推定される。5-フルオロウラシルのヘアレスラットストリプトスキン透過係数 (P_{ED}) は $1.2\times 10^{-5}\text{cm/s}$ である⁹³⁾。また, 生きた表皮および真皮中の拡散係数はレシーバーとして使用される溶媒中の薬物拡散係数にほぼ等しいと推定されるため, 水中におけるものを代用できる。薬物の拡散係数は, (4)式に示すように分子量の関数として表すことができ, 本編の実験の実験で使用する薬物 (MPH, ATL, NF, VIN) の平均分子量340では, 約 $10^{-5}\cdot 35\text{cm}^2/\text{s}$ となる⁹⁴⁾ (以下, 拡散係数の単位は全て cm^2/s)。これらの値から ε_{ED} は0.20と算出される。最後に D_{ED} については, 促進剤の影響を受けて変化するパラメーターと仮定した。その理由は第1編の溶媒透過の実験結果から, エタノールの速い皮膚透過が生きた表皮および真皮中でエタノール自体の濃度勾配を確立し⁹⁵⁾, これによってこの層の薬物拡散性を変化させる可能性があるためである。以上の結果, P_{FT} および C_{FT}/C_V を表す2つの式は, 促進剤の適用によって変化する6種パラメーター, A , B , D_L , D_P , D_{ED} , ε_{sc} , および 薬物の極性を表す K_{ov} から成る関数となった。この6種パラメーターは式の上から見たとき, 個々の変動が及ぼす P_{FT} および C_{FT}/C_V に対する影響は異なるものである。しかしながら, 実際上考え得る変動範囲でそれぞれが動くとき, P_{FT} および C_{FT}/C_V への影響が類似している場合は, いずれのパラメーターの効果であるのか, 数学的検出が難しくなる。そこで, さらにシミュレーションによりこのことを検討した。まず, (9)式のみでは別々に求める

ことの出来ないAと D_L が(26)式の導入により求めることができるか否かについて確かめた。

Fig. 13 の No. 1～4はAと D_L の積を一定として両者を変化させ、他の4種パラメーターを固定してシミュレーションし両対数グラフ上にプロットしたものである。(13)式に基づく(a)では、No. 1～4のいずれも、同一のプロファイルを示し、Aおよび D_L のそれぞれの変化をとらえることはできない。(b)は(26)式に基づくシミュレーションであるが、すべて異なるプロファイルを示している。このことから、皮膚全層の透過プロファイルだけでは求めることのできないAと D_L の変動が、皮膚中薬物濃度を測定することで求められることが明らかである。No. 5～8は D_L と D_{ED} の比を一定とし、他のパラメーターは固定した条件である。シミュレーションの結果(26)式を用いた(b')のグラフではすべて同一のプロファイルを示した。このことから、促進剤が角質層のみならず生きた表皮および真皮に対しても作用し、それぞれの層での薬物拡散性を等しい比率で上昇させる場合には表皮中の薬物濃度に変化は見られないことがわかる。一方(a')はNo. 5～8のパラメーターの組み合わせをそれぞれ異なるプロファイルとして表している。この場合、(13)式により D_L と D_{ED} の変化を個々にとらえることが可能であることを意味する。これらのことから、皮膚全層を用いた透過実験データとあわせて皮膚全層中薬物濃度の測定データが必須であり、相互に補足的な役割をしていることが明らかになった。次に、6種パラメーターのうち、5種を固定し1つのパラメーターを変化させシミュレーションを行った(Fig. 14)。A、B、 D_L および D_{ED} の各パラメーターの変化は、それぞれに特徴的なプロファイルを示している。しかし、 D_P および ϵ_{sc} の変化は類似のプロファイルを示し、どちらのパラメーターの変動の結果得られたプロファイルであるのか、その検出は難しいと判断された。そこで、空隙率 ϵ_{sc} および、その率で存在するpore pathway中の薬物拡散係数 D_P は計算の都合上別途算出を行うが、評価には、積の形 $\epsilon_{sc} \cdot D_P$ として用いることとした。ただし、lipid pathwayの率、 $(1 - \epsilon_{sc})$ については、算出される値をそのまま用いることとした。その理由は ϵ_{sc} の変動(0.01~0.20)の寄与はlipid pathwayの透過にとっては小さいためである。以上から、 K_{ov} を独立変

数として扱い、数種極性の薬物を用いて透過実験 (P_{FT}) および皮膚全層中薬物濃度 (C_{FT}/C_V) を調べる実験を行い、促進剤の適用で $P_{FT}-K_{OV}$ および C_{FT}/C_V-K_{OV} の関係がどのように変化するかをグラフ上で確認し、さらにこれら実験データと (13) および (26) 式を用いて曲線回帰を行い、各促進剤ごとに 5 種 ($A, B, D_L, \varepsilon_{SC} D_P, D_{ED}$) パラメーターを求めることで促進剤の作用が評価可能となる。最後に、薬物の極性 (K_{OV}) と皮膚全層透過係数 (P_{FT}) の関係について、(13) 式の極限をとることにより得られる重要な知見について述べる。

(13) 式から、 $D_{ED} \gg D_P$ の条件では、

$$\lim (K_{OV} \rightarrow 0) P_{FT} = \varepsilon_{SC} D_P / L_{SC} = \varepsilon_{SC} P_P \quad (27)$$

$$\lim (K_{OV} \rightarrow \infty) P_{FT} = \varepsilon_{ED} D_{ED} / L_{ED} = P_{ED} \quad (28)$$

(27) 式から、基剤への分配性が高い薬物は主として pore pathway のみを透過する。一方、(28) 式からオクタノールへの分配性が高い薬物 (角質層への分配性の高い薬物) は生きた表皮および真皮の透過が律速となる。薬物の皮膚透過係数 (P_{FT}) はその薬物の極性 (K_{OV}) に依存し、最小値 $\varepsilon_{SC} P_P$ から、 K_{OV} の増加に伴い、 P_{ED} を漸近線として上昇することになる。皮膚を 2 層膜としてモデル化することによって、真皮律速の存在を式の上から推定することができる。

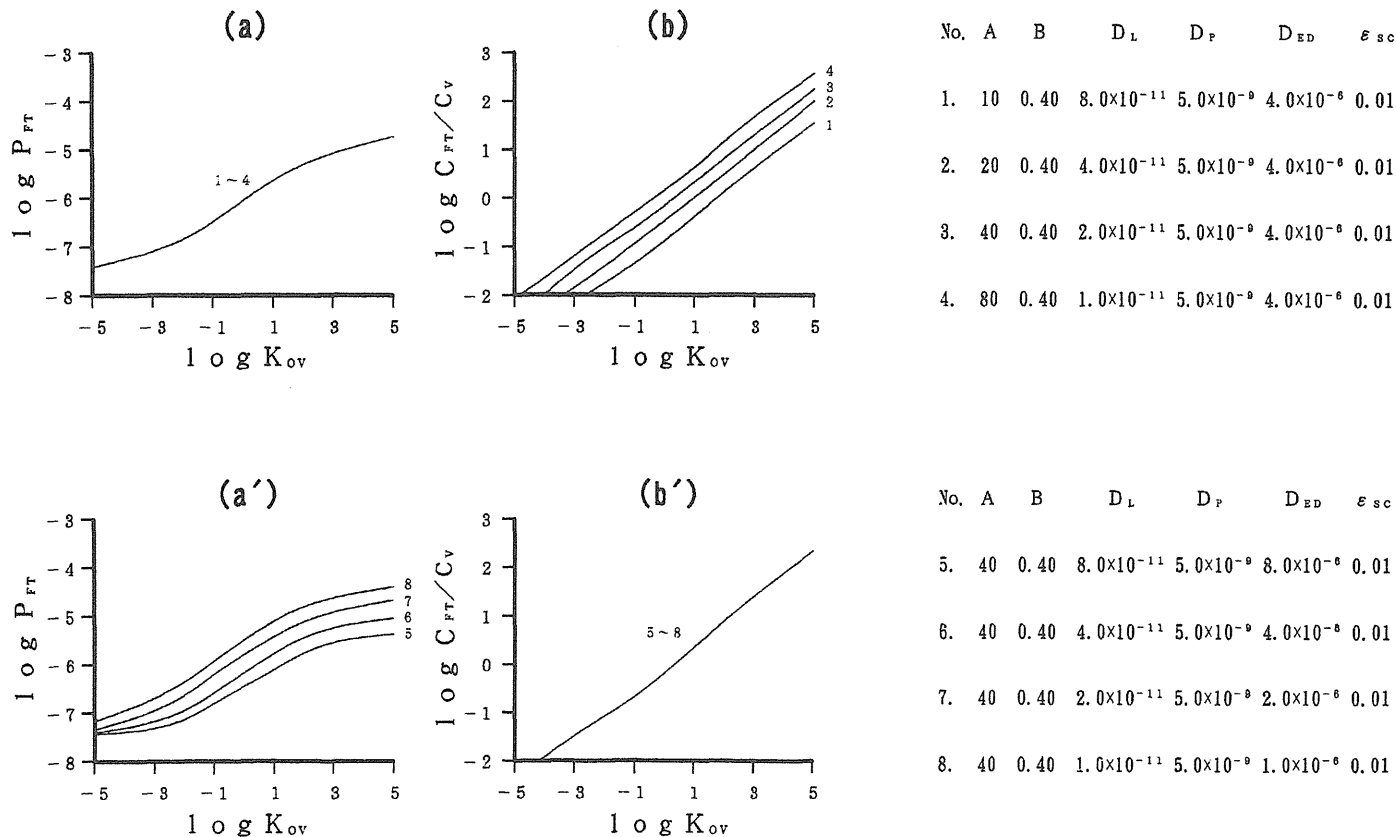


Fig. 13. Simulation curves using the eight sets of coefficients shown.

Conditions : Nos. 1-4, constant product of A and D_L and other coefficients ;
 Nos. 5-8, D_L and D_{ED} varied but ratio and other coefficients constant.

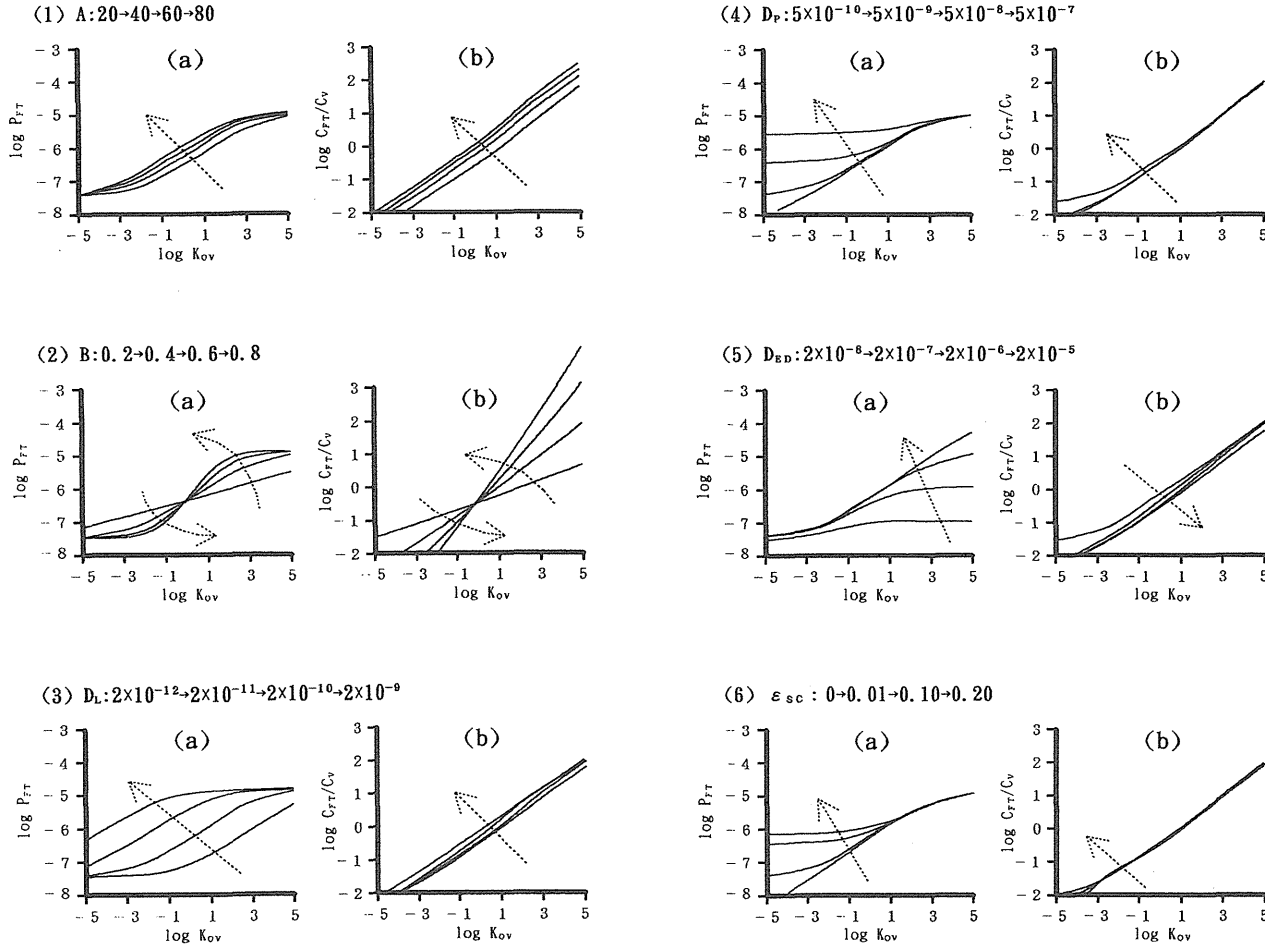


Fig. 14. Simulation curves when one of the six coefficients is varied.

The varied coefficient is shown above each graph. The other coefficients are $A=30$, $B=0.4$, $D_i=2 \times 10^{-11}$, $D_F=5 \times 10^{-9}$, $D_{ED}=4 \times 10^{-6}$, and $\varepsilon_{sc}=0.01$. Dotted arrows correspond to variation of a coefficient.

第2節 物理化学的パラメーターから見たMEW系の促進機構

前節のモデルに基づきMEW系の促進機構を解析した。モデル薬物には第1編で用いた極性の異なる4種類、MPH、ATL、NFおよびVINを選択した。前編の実験でMEW系の促進効果は、*l*-メントールとエタノールの効果が相乗的に出現したものであることが示唆されていた。このような効果は、それぞれの作用が異質のもので、かつ、独立に現れる場合に見られると推定される。そこで、本節ではMEW系の促進効果に対する *l*-メントールとエタノールの寄与を知るために、水 (W) , 5%*l*-メントール/水 (MW) , 40%エタノール/水(EW) およびMEW系 (MEW) の4種基剤を用いて実験を行った。まず K_{ov} を求めるために、各薬物の4種基剤およびオクタノールに対する溶解度を測定した。次に、前編と同様の方法でヘアレスラット腹部摘出皮膚および2チャンバー拡散セルを用いて透過実験を行い、4種基剤からの各薬物の皮膚透過速度を求めた。本編で構築したモデルは定常状態を仮定しているため透過速度には累積透過量対時間曲線の直線部分である6~8時間の傾きを用いた。また、この透過速度に対応する定常状態皮膚全層中薬物濃度としては、8時間の透過実験終了直後にセルにマウントした皮膚の薬物透過部分 0.95cm^2 を打ち抜き、この部分の薬物濃度を測定して用いた。 P_{FT} は定常状態薬物透過速度を基剤中薬物濃度で除して求めた。 C_{FT}/C_V は皮膚中濃度を基剤中薬物濃度で除して求めた。実験に用いたドナーおよびレシーバーをTableIVに示す。

Table IV. Donor and Receiver Compositions Used in this Experiment

Drug	Vehicle				Receiver
	W	MW	EW	MEW	
MPH	1%Sol.	1%Sol.	1%Sol.	1%Sol.	Water
ATL	1%Sol.	1%Sol.	1%Sol.	1%Sol.	Water
NF	2%Sus.	2%Sus.	2%Sus.	2%Sus.	40%PEG
VIN	2%Sus.	2%Sus.	2%Sus.	2%Sus.	40%PEG

Sol. : Solution. Sus. : Suspension. PEG : Polyethyleneglycol 400

Table Vに実験により得られた K_{ov} , C_{FT}/C_v および P_{FT} を対数値として示した。

Table V. K_{ov} , C_{FT}/C_v and P_{FT} Values of of Drugs Obtained from the Experiment (Expressed Logarithmically)

	MPH	ATL	NF	VIN
$\log K_{ov}$				
W	-2.53	-0.30	3.35	3.56
MW	-2.46	-0.31	3.07	3.49
EW	-2.78	-1.30	0.41	1.56
MEW	-2.63	-1.32	0.14	1.12
$\log C_{FT}/C_v$				
W	-1.38	-0.72	0.59	0.98
MW	-0.61	-0.032	1.60	1.87
EW	-1.17	-0.96	-0.78	-0.41
MEW	-0.66	-0.13	0.21	0.35
$\log P_{FT}(\text{cm/s})$				
W	-7.38	-6.54	-5.07	-5.21
MW	-5.86	-4.96	-4.92	-5.63
EW	-7.12	-7.21	-6.92	-7.18
MEW	-5.36	-5.08	-5.44	-5.62

K_{ov} はWとMW, また, EWとMEWとでそれぞれ近似した値であった。これは, WとMWまたEWとMEWに対する各薬物の溶解度がほぼ等しいためである。さらに, エタノールを含むEWおよびMEWでは, それぞれWおよびMWに比して高い溶解度を示した。 C_{FT}/C_v は ℓ -メントールを添加することによって,

すなわちWに対してはMW， EWに対してはMEWとなることによって増加した。P_{FT}はEWで小さく， *l*-メントールを含むMWおよびMEWで大きな値を示した。

次に、これらの値に対して、(13) および (26) 式の同時あてはめを行い、 6種パラメーターを各基剤ごとに求めた。計算には、非線形最小二乗法プログラムMULTI⁹⁶⁾を用いた。回帰の寄与率は79.6%であったため、(13) および (26) の両式はP_{FT}とK_{OV}およびC_{FT}/C_VとK_{OV}の関係をそれぞれ表現しているものと考えられた。Fig. 15にその結果を示す。

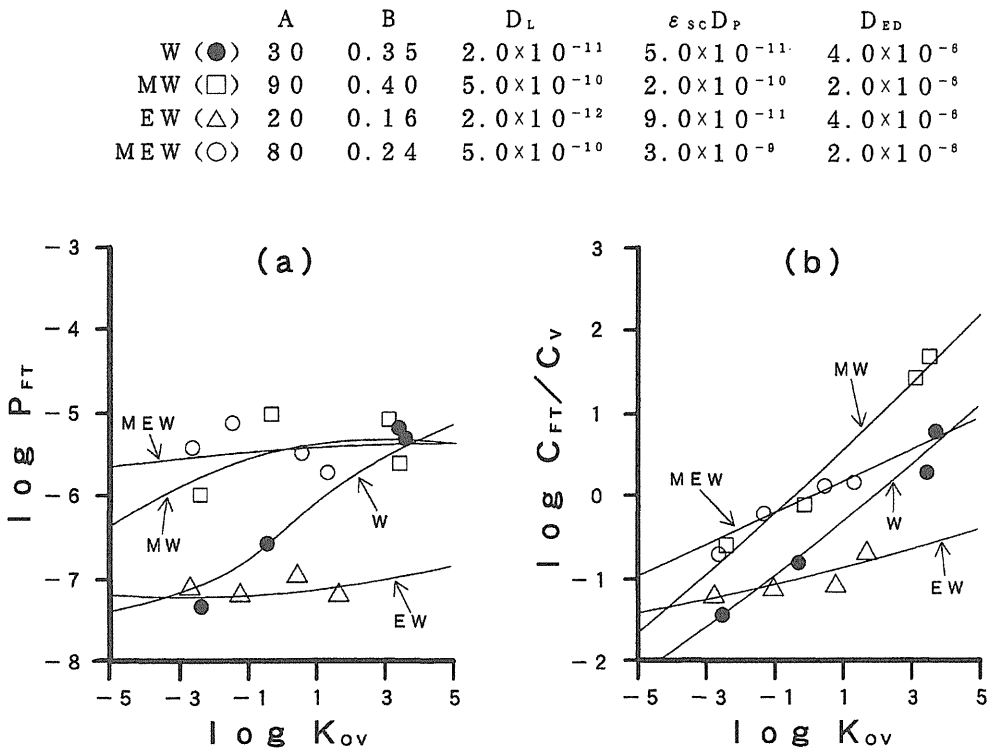


Fig. 15. Observed values and fitting curves using the four sets of coefficients calculated.
*Simultaneous fitting was done for P_{FT}-K_{OV} and C_{FT}/C_V-K_{OV}.
 Dimension of diffusion coefficient is cm²/s.*

図の上部には計算によって得られたパラメーターの値を示した。図中の各点はTable Vで示す実測値である。また、図の各線は求めたパラメーターを用いてシミュレーションを行ったものである。

Wを用いたとき P_{FT} は K_{OV} の上昇に伴って上昇した((a), 黒丸)。これに対し、他の基剤では、 K_{OV} の上昇に伴う P_{FT} の変化は小さいものであった。興味あることにWからMW, EWからMEWへと ℓ -メントールを添加することで、その皮膚全層中濃度/基剤中濃度比($\log C_{FT}/C_V$)が両対数グラフ上で平行移動することが認められ、またWからEWおよびMWからMEWへとエタノールを加えることによってシミュレーションカーブの傾きは減少した((b))。

これらの結果をパラメーターの変動としてとらえると、 ℓ -メントール添加による P_{FT} の上昇および $\log C_{FT}/C_V$ の平行移動はAおよび D_L 上昇の結果である(Fig. 15, 上部)。Fig. 14(1)および(3)から明らかのように、 D_L の上昇のみでは $\log C_{FT}/C_V$ の大きな平行移動は説明がつかない。また、Aの上昇のみでは P_{FT} の強い上昇は同じく説明できず、両者ともに上昇したのと考えられた。次にエタノール添加による傾きの減少はBの低下によるもので、これはFig. 14(2)からも明らかである。パラメーターの計算結果を要約すると ℓ -メントールはA, D_L , および $\varepsilon_{sc}D_P$ を上昇させ、そしてエタノールは溶解度の上昇、Bの減少、 $\varepsilon_{sc}D_P$ の増加をもたらした。両促進剤はそれぞれ異なるパラメーターを変動させることから、作用機構の異なる促進剤であると考えられた。しかしながら、Wにエタノールを加えたEWでは D_L の低下を見るのに対し、MWにエタノールを加えたMEWではこれを低下させない。このことは、MEWの強い促進効果が単に、 ℓ -メントールとエタノールの相乗効果だけではないことを示唆する。そこで次に、促進剤であるエタノールおよび ℓ -メントールの皮膚への移動について検討するために、実験終了直後(8 h)のこれらの皮膚中濃度を測定した。Table VI に測定結果を示す。

MEWは ℓ -メントールの皮膚全層中濃度をMWの約2倍、同様にエタノールの濃度はEWの約2.5倍上昇させた。このことから、MWにエタノールを加えても D_L が減少しないのは、より強い促進剤である ℓ -メントールの皮膚全層中濃度が上昇するためと推定された。

Table VI. Ethanol and 1-Menthol Content in Full-Thickness Skin
after 8-hr Experiments

Vehicle	Content(%)	
	Ethanol	1-Menthol
MW		3.0±0.3
EW	3.2±0.4	
MEW	8.6±0.1	5.7±0.6

次に促進剤の基剤および皮膚に対する作用を考察するために、各促進系ごとのパラメーターの値を水基剤に対するおおよその比として、Table VIIに示す。

Table VII. Approximate Magnification of Parameters to W

	A	B	D _L	$\epsilon_{sc} D_P$	D _{ED}
MW	3	—	25	4	0.5
EW	—	0.5	0.1	2	—
MEW	3	0.7	25	60	0.5

MWおよびMEWに見られる、*l*-メントールの添加によってもたらされるAの上昇は、角質層中での溶媒の溶解度上昇を意味し⁸⁶⁾、基剤から角質層へ溶媒が移動し易い状態になったことを表している。このことは、前編、Fig. 7および8に示した溶媒の皮膚透過性が、D₂OではMEW>MW>EWおよびE t O DではMEW>EWとなった結果と一致し、*l*-メントールには基剤溶媒を皮膚へ移動させる作用のあることが示された。EWおよびMEWでの、エタノール添加によるBの低下は皮膚極性の上昇を意味し⁸⁶⁾、皮膚への極性物質の分配性上昇と脂溶性物質の分配性低下を示唆している。そのため、皮膚へ分配しにくい水溶性薬物に対しては促進効果を有すると考えられるが、脂溶性薬物では透過性低下

を招く場合のあることが推定される。このエタノール添加によるBの変化は、種々論文間において、異なる薬物(極性に違いが出る)を用いて行われたエタノールの促進効果の結果や評価が異なる原因とも考えられた⁹⁷⁾。D_Lに対する影響はℓ-メントールを含むMEWおよびMWと、EWとで大きく異なり、前者は上昇、後者は減少させた。Table VIIからℓ-メントールの主たる促進作用はD_Lの上昇と見なすことができ、これは Barryらの結果と一致した。また、その皮膚に対する作用は彼らの仮説⁴⁷⁾ である、角質層 lipid domain の脂質配列を乱すことによる作用と推定される。その理由として、溶媒の透過抵抗の低い pore の寄与を示す $\varepsilon_{sc} \cdot D_p$ に比べD_Lの上昇が大きいことが上げられる。 $\varepsilon_{sc} \cdot D_p$ の上昇は、Aの上昇に起因する溶媒の透過性亢進からも説明可能であるが、lipid domain において強く拡散性が上昇するのは、この部位の構造変化が示唆されるためである。一方、エタノールによるD_L減少の原因については明らかにできなかった。しかし、エタノールの促進効果は角質層細胞間脂質の流動性上昇ではなく、脱脂以外にないとした、Bommannanらの報告⁸²⁾ には矛盾しないものであった。すなわち、エタノールは薬物の溶解度および、pore の寄与 ($\varepsilon_{sc} \cdot D_p$ の上昇)を上昇させ、高濃度の薬物溶液を pore pathway を通して運ぶことで促進効果を示すと考えられた。最後に、D_{ED}は ℓ-メントールを含むMWとMEWでわずかに低下する傾向が見られたが有意な変化とは考えにくいものであった。

ここで、前編第3章および第4章で行ったMEWの促進機構についての仮説および考察と本章の結果を照合してみた。前編では溶媒透過の実験結果から、MEWの促進機構は、① ℓ-メントールがエタノールの透過を促進するため、角質層へのエタノールの浸透量および浸透速度が増加し、その結果、② ℓ-メントールや薬物(特に水溶性薬物)が角質層に分配しやすくなる。次に、③ ℓ-メントールが角質層中の透過抵抗を減少させ、溶媒および薬物の透過が亢進する。また、40%エタノールはモデル薬物であるMPHの溶解度が最も高くなる組成、すなわち、コソルベンシーを示す組成であり、このことからMEWの適用による促進効果には溶媒けん引の寄与があるかもしれない、と考えられた。①については前述のℓ-メントール添加によるAの上昇と一致する。②については、Bの減少に伴う水溶性薬物の分配性上昇から説明できる。③についてはMEW適

用による D_L の上昇と一致する。また、溶媒けん引については、MEWの適用で $\varepsilon_{sc} \cdot D_p$ が著しく増大 (Table VII, 60倍)することから、pore の寄与上昇で説明可能と考えられた。

本章で構築したモデルは、促進剤の特徴を5種パラメーターを用いて多角的にとらえることが可能であるため、促進剤の評価あるいは組み合わせによる製剤応用に有用と考えられた。すなわち、異なるパラメーターを変化させる促進剤の併用は相乗効果が期待される。また、このモデルを使用して行ったMEW系の評価結果は、全く異なる促進特性を有する β -メントールとエタノールの効果が相互に打ち消し合うことなく反映されるものと考えられた。

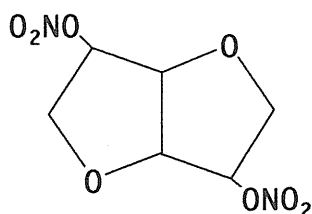
第2章 ヘアレスラットとヒト皮膚間に見られる促進効果の差と促進機構

前編の実験において、MEW系の促進効果はヘアレスラットとヒト皮膚とで明らかに異なっていた (Fig. 11)。このことは、ヘアレスラットとヒト皮膚とで、そのバリアー能を担う構造が異なるための現象と推定される。そのため、両皮膚間の促進効果の差を検討することにより、促進剤の作用の本質についての情報が得られる可能性がある。また、ヘアレスラット皮膚は経皮吸収の実験に最も汎用される皮膚であるため、これとヒト皮膚との物質透過性の差を研究することは重要である。そこで本章第1節では、促進機構解析の一環として、この促進効果の差の程度および原因について調べた。また、第2節ではMEW系適用時、ヒト皮膚で認められる透過のラグタイムと脱脂との関連性を速度論的に解析し、促進効果に対する脱脂の寄与について検討した。

第1節 促進効果の差とその原因

経皮吸収促進剤の効果に見られる種差は皮膚のメインバリアーである角質層の構造・組成が動物種により異なることに起因すると考えられる。Elias はヒトおよび動物皮膚の角質層構成成分を分析し、その組成比が異なることを報告している⁹⁸⁾。角質層のバリアー能を担う脂質成分には、リン脂質、スフィンゴ脂質、ステロール類、トリグリセリドおよび遊離脂肪酸があるが、なかでも中性脂肪（遊離ステロール類、ステロールエステル、遊離脂肪酸、トリグリセリド）およびセラミドの極性基が脂質二重層の配列を維持していると考えられており、バリアー能への寄与は大きいと推定される⁹⁹⁾。ヒト皮膚の中性脂肪含有率は約80%であり、ブタあるいはマウスの約50%に比べ高いが、セラミドおよび糖スフィンゴ脂質では、むしろマウスおよびブタの含有率が高く、ヒトの12%に対し、それぞれ34%および41%である⁹⁸⁾。このような組成の違いは薬物の経皮吸収性に少なからず影響すると考えられる。具体的な例として、Satoらはニコラ

ンジルをモデル薬物とし、Azone およびミリスチン酸イソプロピルを促進剤として経皮吸収促進効果の種差を検討し、ヒトでの促進効果は角質層表面脂質の多い動物（ヘアレスラット，ヘアレスマウスあるいはモルモット）に比べ低いことを報告している⁵⁵⁾。そこで、本編では、ヘアレスラットとヒト皮膚間の促進効果の違いを、角質層からの脂質の溶出性と関連付けて解析し、皮膚のバリアー能と促進剤の作用との関係を検討した。促進剤は前章同様W，MW，EW およびMEWを用いた。ここで、これら促進系を選択した理由は、作用様式が異なる促進剤の代表としてであり、促進剤適用時のヘアレスラットとヒト皮膚バリアー能変化の差を促進剤の種類と無関係に評価することは出来ないためである。モデル薬物としては現在TDSとして最も汎用されている硝酸イソソルビド（ISDN）を用いた。ISDNの構造式および簡単な物性をFig. 16に示す。



mol wt : 236

mp : 69°C

log K_{ow} : 1.34

Fig. 16. Chemical structure and physicochemical properties of isosorbide dinitrate (ISDN).

ヒトおよびヘアレスラット皮膚を用い in vitro 透過実験を行った。ただし、ヒト皮膚は入手が難しく実験を行える例数には限りがある。そこで、1回の実験でより多くの情報を得るために、第1編、3章で行ったように、水およびエタノールをD₂OおよびEtODでそれぞれ代用し、溶媒および ℓ -メントールの透過量についても同時に測定した。ISDNは基剤中の活量を一定にするために、懸濁状態で適用した。Fig. 17 に透過実験の結果を示す。また、Fig. 18にはヒトとラットとで各促進系の効果がどのように違うのかを見るために、時間毎の累積透過量比（ヒト／ラット；H／R）を示す。Table VIIIには促進効果の差を分かり易くするために実験終了時（8時間目）のH／Rを示す。

透過実験の結果得られた促進効果の差は次の4点に要約される。①いずれの透過物質（ドナー成分）および促進系においても、ヒト皮膚透過性はヘアレスラットに比べ低い値であった（Fig. 17）。②ヒト皮膚ではMEWを用いたとき初めて強い促進効果が得られた（Fig. 17）。③EWおよびMEWでは透過物質によらずH／Rはほぼ一定であるが、MWでは透過物質によって異なる値を示した（Fig. 18, Table VIII）。④ヒト皮膚ではMEWを用いたとき、透過物質によらず約2時間のラグタイムを示すがヘアレスラットではそれは見られなかった（Fig. 17）。

これらの結果から次のことが推定される。（1）ヒト皮膚はヘアレスラットに比べバリアー能が強いが、（2）MEWはこの強いバリアー能をも大きく低下させることができる。また、（3）エタノールを含む促進系では物質種に無関係に一律にバリアー能を低下させるが、 ℓ -メントールの促進効果は物質種に依存し、さらにその効果はヒトとヘアレスラットとで異なる。（4）MEW適用によるヒト皮膚のバリアー能低下は経時的に変化する。

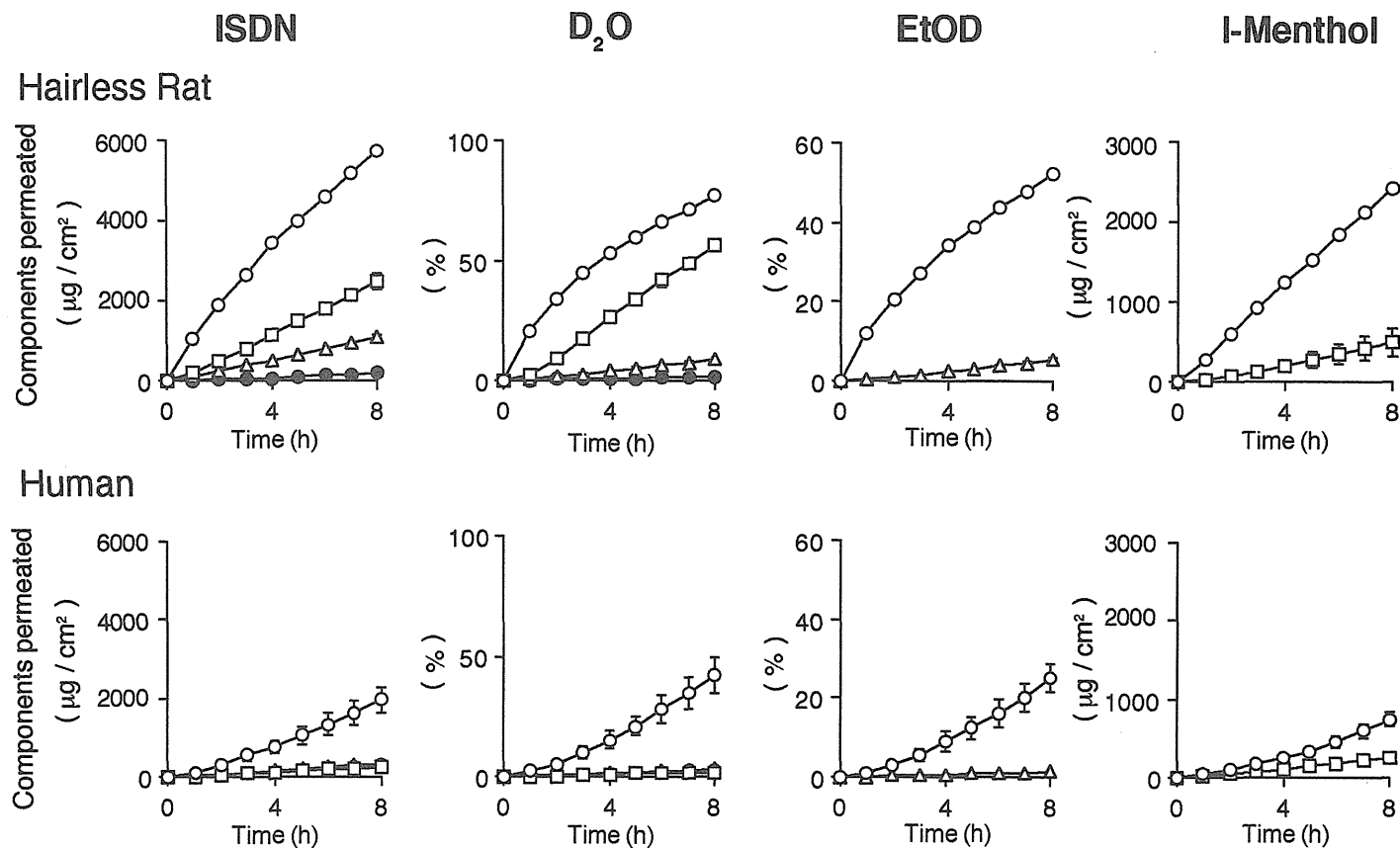


Fig. 17. Effect of enhancers on the permeation of several components through hairless rat and human skin.

Each point represents the mean and SD of three experiments. W (●), EW (▲), MW (□), MEW (○).

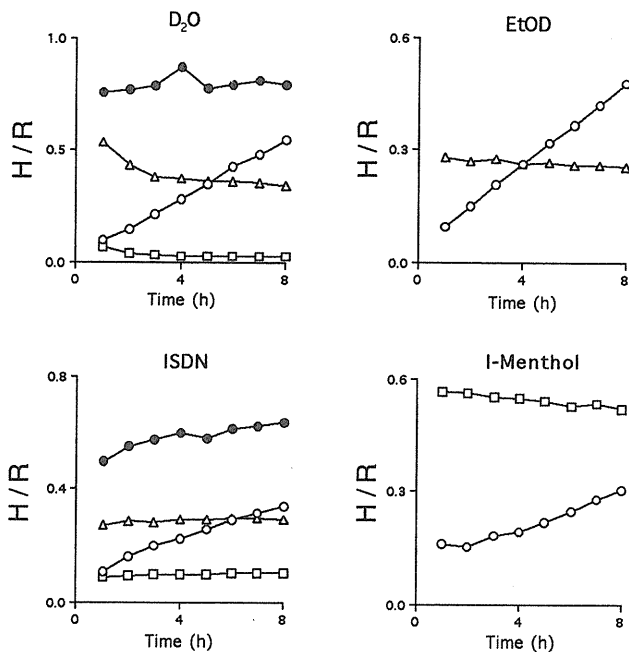


Fig. 18. Time course of H/R in each permeant.
W (●), EW (Δ), MW (□), MEW (○).

Table VIII. Approximate Ratio of Cumulative Amount of Each Component Permeated over 8h through Human Skin to that through Hairless Rat Skin (H/R)

Vehicle	Component			
	D ₂ O	EtOD	ISDN	I-Menthol
W	1		1/2	
MW	1/30		1/8	1/2
EW	1/4	1/3	1/4	
MEW	1/2	1/2	1/3	1/3

そこで、さらに、これらの現象がヒト皮膚とヘアレスラット皮膚のどのような相違によるものであるのかを検討するために、角質層バリアー能の本体である脂質のドナー側への溶出量を、経時的に測定した (Fig. 19)。脂質量は総脂質として、Knightらの方法⁹⁹⁾に従い測定した。また、中性脂肪のなかでも角質層の構造維持に最も関与が深いと考えられているコレステロール¹⁰⁰⁾の各促進系に対する溶解度を測定した。なお、角質層総脂質量と溶出した脂質量を比較するために、角質層総脂質含量を測定した (Fig. 19, 斜線)。さらに、前章の実験において皮膚中 ℓ -メントール濃度が促進効果に関与していると考えられたため実験終了直後にこれを測定した (Table IX)。

Fig. 19から、各促進系の促進効果と脂質溶出量との間に相関性の認められることが分かる。すなわち、ヘアレスラットの場合、促進効果は透過物質によらず、 $MEW > MW > EW$ であり (Fig. 17)、脂質の溶出量も同様に $MEW > MW > EW$ であった。ヒト皮膚の場合、促進効果は $MEW >> MW \geq EW$ 、脂質の溶出量は $MEW >> EW \geq MW$ となり、MEWが他の促進系に比べ著しく強い作用を有し、MWとEWではほぼ同程度の作用であることが伺われる。また、皮膚中 ℓ -メントール濃度は促進系を問わずヒト皮膚ではヘアレスラットの1/4程度であり、ヒト皮膚は ℓ -メントールが分配しにくく、かつ、脂質溶出性の低い構造であることが明らかである。さらにコレステロールの各促進系に対する溶解度の測定結果は、EW ; 8.1, MW ; 20.8, MEW ; 683 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり、促進効果の強さと一致した。これらのことから、先に述べた (1) および (2) の促進剤作用の強弱の差は、促進系による角質層構造脂質の溶解力および皮膚の種類の違いに起因する、脂質保持能力の差で説明できるものと考えられた。次に (3) の透過物質の違いにより H/R に差が出る場合 (MW) と差の見られない場合 (EW, MEW) について考察する。Morimotoらはヘアレスラットおよびヒト皮膚を通しての薬物経皮吸収性の予測式を報告している (ヒト : $P(\text{cm}/\text{s}) = 1.17 \times 10^{-7} K_{ow}^{0.751} + 2.73 \times 10^{-8}$, ヘアレスラット : $P(\text{cm}/\text{s}) = 4.78 \times 10^{-7} K_{ow}^{0.589} + 8.33 \times 10^{-8}$)¹⁰¹⁾。これによると、ヒト皮膚では水溶性薬物の透過性がヘアレスラットに比べ低く、薬物の脂溶性が高くなるにつれて両者の差が小さくなる。このことは、Illelらの、ヘアレスラット皮膚を通しての薬物吸収性には毛嚢等の経

付属器官ルートの寄与が大きい, とする報告^{10,2)} からも理解できる。MWはラット皮膚に対しては脱脂効果を有するが, ヒト皮膚に対する効果は弱い(Fig. 19) 。そのため, ラットでは水溶性薬物の透過ルートである pore pathway の寄与が上昇し, これらの薬物の透過性が上昇しやすい。D₂O, I S D Nおよびℓ-メントールを極性の点から見た場合, D₂Oは極性物質, I S D NのlogK_{ow}は1.34⁹⁷⁾ そして, ℓ-メントールは油状物質である。MWの適用によってヘアレスラット皮膚ではヒト皮膚に比べ極性物質の透過性が亢進したため, H/Rの値がD₂O < I S D N < ℓ-メントールになったものと推定される。一方, EWおよびMEWでこのような現象がないのは, EWではヒトおよびヘアレスラット, 両皮膚の脂質構造に対して作用が弱いため, MEWではどちらに対しても作用が強いためである。最後に(4) MEW適用時のラグタイムの差についての問題が残るが, これについては次節で詳細に述べる。

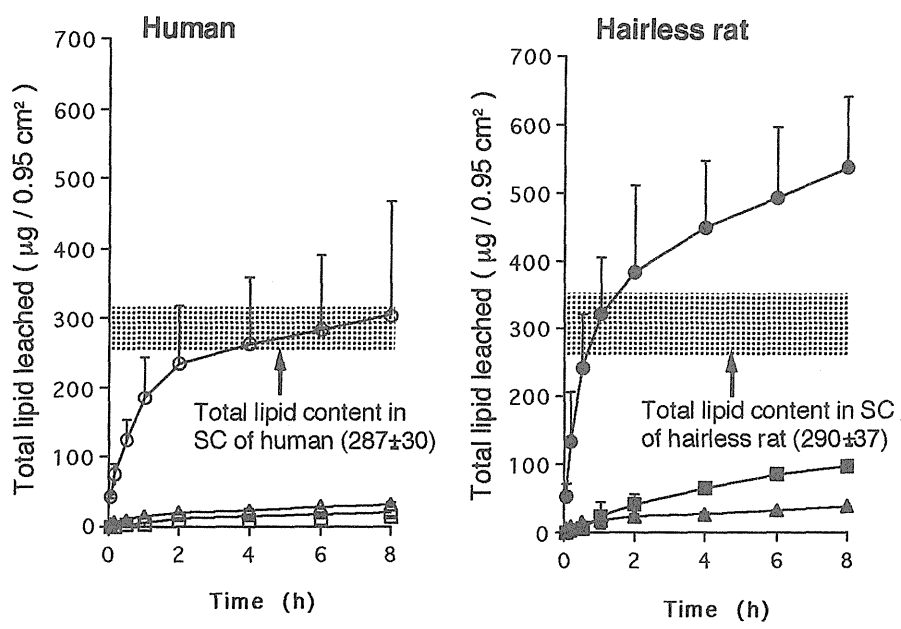


Fig. 19. Effect of enhancers on the lipid leaching from skin into the donor compartment.

Each point represents the mean and SE of three experiments. Hairless rat skin with EW (▲), hairless rat skin with MW (■), hairless rat skin with MEW (●), human skin with EW (△), human skin with MW (□), human skin with MEW (○).

Table IX. 1-Menthol Concentration in Hairless Rat and Human Skin after the 8h Permeation Experiment

Vehicle	1-Menthol Concentration (mg/g)	
	Hairless Rat	Human
MW	33.8	8.5
MEW	72.9	17.4

第2節 ラグタイムの差とその原因

ヒト皮膚にMEWを適用した場合、透過物質とは無関係に約2時間のラグタイムが見られた (Fig.17)。一方、ヘアレスラットではラグタイムは認められなかった。一般に、物質の膜透過に見られるラグタイムは、膜に適用した基剤等が膜の性質に影響を与えない場合、物質の膜への分配、拡散が定常に達するまでの時間であり、次式で与えられる¹⁰³⁾。

$$\tau = L^2 / 6D \quad (29)$$

ここで、 τ はラグタイム、 L は膜の厚み、 D は膜中での拡散係数である。 D はさらに、分子量の関数として表すことが可能で、これはすでに (4) 式として示した。

$$\log D = -C_1 \times \log M + C_2 \quad (4)$$

C_1 および C_2 は定数、 M は分子量である。(4) 式を (29) 式に代入すると、 τ は膜の厚み L と分子量 M の関数になる。 D_2O 、 $EtOD$ 、 ℓ -メントールおよび $ISDN$ の分子量はそれぞれ、20、54、156 および 236 であり、実験中皮膚

に変化がなければ透過物質間でラグタイムに差がみられるはずである。そこで、この現象は脱脂に起因する経時的な皮膚変化で説明可能であるかどうか検討するために、2層抵抗モデルに基づいて解析した。

前章同様皮膚を2層膜と考えると、

$$R_T = R_{sc} + R_{ED} \quad (30)$$

ここで、 R_T 、 R_{sc} および R_{ED} は、皮膚全層、角質層および生きた表皮および真皮の抵抗である。

興味あることに、ヒト皮膚にMEWを適用したときの物質の透過プロフィール (Fig. 17) およびヒト皮膚にMEWを適用したときの脂質の溶出プロフィール (Fig. 19) は、共に約2時間にベンディングポイントをもつ凹型および凸型の曲線である。そこで、角質層の透過抵抗 (バリアー能) が脂質の溶出に伴い低下し、そしてその低下が1次の速度過程に従うと過程するならば、

$$R_{sc\,t} = R_{sc\,0} e^{-k\,t} \quad (31)$$

とおける。ここで、 $R_{sc\,t}$ はMEW適用後 t 時間の角質層の透過抵抗、 $R_{sc\,0}$ はMEW適用前の角質層の透過抵抗である。 k は速度定数である。(31) 式を(30) 式に代入し、透過係数 P と抵抗 R の関係が $P = 1/R$ であることを用いると、 P_T は次式となる。

$$P_T = (P_{sc\,0} e^{k\,t} \cdot P_{ED}) / (P_{sc\,0} e^{k\,t} + P_{ED}) \quad (32)$$

なお、全ての上つきおよび下つき文字の意味は抵抗のときと同様である。

P_{ED} が $P_{sc\,0}$ の A 倍大きいと仮定すると ($P_{ED} = A \cdot P_{sc\,0}$) 上式は、

$$\begin{aligned} P_T &= (A \cdot P_{sc\,0} e^{k\,t}) / (A + e^{k\,t}) \\ &= A \cdot P_{sc\,0} / (A e^{-k\,t} + 1) \end{aligned} \quad (33)$$

となる。累積透過量 Q を用いると flux, J は次式となる。

$$\begin{aligned} J &= dQ / dt = P_T C_v \\ &= C_v \cdot A \cdot P_{sc0} / (A e^{-k \cdot t} + 1) \end{aligned} \quad (34)$$

ここで C_v は基剤中薬物濃度である。 Q を t で積分すると、

$$\begin{aligned} Q &= C_v \cdot P_{sc0} \cdot A \cdot \int_0^t 1 / (A e^{-k \cdot t} + 1) dt \\ &= C_v \cdot P_{sc0} (A / k) \ln((A + e^{k \cdot t}) / (A + 1)) \end{aligned} \quad (35)$$

となる。(35) 式を用い、 t を独立変数、 Q を従属変数としてシミュレーションを行えば、1次速度に従って角質層のバリアー能が低下するときの累積透過量が得られる。しかしながら、 k および A が未知であるのでこれを決定する必要がある。 k はFig. 19から、ヒト皮膚のバリアー能が2時間で1/10に低下したと仮定すると、(31) 式から $1.15h^{-1}$ と計算される。 A は透過物質の極性により決まる値で、水溶性物質で大きく脂溶性物質で小さくなると考えられるが、その範囲はほぼ5~100程度と推定される¹⁰⁴⁾。そこで、 A を5, 10, 30, 50 および 100の5通りに設定し、 $k=1.15$ として、それぞれシミュレーションを行った。その結果をFig. 20に示す。

いずれの曲線も見かけ上、2時間の周辺にラグタイムを有するかのような推移を示し、Fig. 17のMEWをヒト皮膚に適用した際に見られた現象と一致した。このことから、MEW適用時、透過物質の種類とは無関係に得られる一定のラグタイムは、角質層からの脂質溶出に伴う経時的バリアー能低下から説明可能と考えられた。

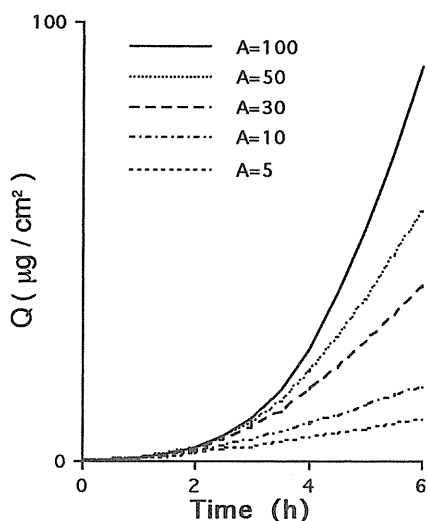


Fig. 20. Simulation curves based on Eq. 6.

Product of C_v and P_{sc} , proportionality constant in Eq. 6, is assumed to be unity ($1 \mu\text{g}/\text{h per cm}^2$). A and k are assumed to be 5, 10, 30, 50 and 100, and 1.15, respectively.

第3章 本編の考察

MEW系の経皮吸収促進効果, すなわち ℓ -メントールとエタノールの併用効果を分配・拡散といった物理化学的側面から検討した。また, ヘアレスラットとヒト皮膚間に見られる促進効果の差の検討を通じて, 皮膚バリアー能の指標と考えられる脂質の溶出と促進効果との関連性について知見を得ることができた。薬物の皮膚への分配性および皮膚中での拡散性は薬物そのものの性質, および薬物と皮膚との相互作用の結果決まるものである²²⁾。そのため, 基剤の修飾によってこれらが変化する場合, 基剤が皮膚へ何らかの影響を及ぼしたと考えるべきである。第1章で構築したモデルは促進剤の適用によって変化した分配および拡散の種々係数を皮膚変化のパラメーターとしてとらえ, 同時にこれら変化したパラメーターを促進剤作用の指標として利用しようとしたものであ

る。結果としてMWとEWは異なる作用を有する促進剤で、これを組み合わせたMEWは両者の作用を有する極めて強力な促進系であることが明らかになり、強い効果を得るためには最良の組み合わせであることが判明した。本法は促進剤を、5種パラメーターを用いて多角的に特徴づけることができるため、促進剤の分類、合理的な併用あるいは促進剤の開発への応用が期待される。

一方、ヘアレスラットとヒト皮膚間に見られる促進効果の差の検討結果は、脂質の溶出量と促進効果とが促進剤の種類および皮膚の種類とは無関係に相関する可能性を示唆した。皮膚のメインバリアーはヘアレスラットおよびヒトのいずれにおいても角質層脂質である⁹⁸⁾ことを考えるとこの現象は理解できる。さらに、ヒト皮膚にMEW系を適用した場合の見かけのラグタイムはいわゆる分配拡散のラグタイムとは異なり脂質の溶出に起因する経時的バリアー能の低下によるものと考えられた。このことは、促進剤の適用による皮膚中薬物拡散係数上昇をラグタイムから解析することには問題のあることを示すものであり、注意が必要と考えられた。

第3編 MEW系の in vivo 適用の検討¹⁰⁵⁾

第1編および第2編で、MEW系の考案およびその作用機構について詳細に述べた。MEW系は効果および実用性の両面において、極めて有望な経皮吸収促進剤であるため、本論文における基礎的研究以外に、製剤応用へ向けてのプロジェクトが生まれ、MPHのTDS化に成功を納めつつある。MEW系そのものでは脱脂に起因する皮膚刺激が強いため、エタノール濃度を下げ、第3の溶媒および成形のための高分子を添加して、試作製剤による試験が進められている¹⁰⁶⁾。Fig. 21 は試作製剤を家兎背部に貼付した後の、血中MPH濃度推移の実測値および予測値である。予測値は in vitro 実験から得られた透過速度と静注後の消失速度をコンボリューションして得たものである。両者には高い相関性が認められる。さらに、この血中濃度推移を同用量の経口徐放性製剤(MSコンチン[®])と比較したものが Fig. 22 であるが、優れた持続性を示していることが明らかである。一般に、in vivo の薬物経皮吸収速度は in vitro の結果を反映することが知られている¹⁰⁷⁻¹⁰⁹⁾。MPHの試作製剤についてもそのような結果が得られている (Fig. 21)。しかしながら、最近、in vitro と in vivo の薬物経皮吸収性が必ずしも一致しないことを示す報告がある¹¹⁰⁻¹¹²⁾。通常 in vitro の経皮吸収実験はドナー側からレシーバー側への物質移動の駆動力を損なわないようにシンク状態を保つ必要があり、ドナー／レシーバーの濃度比を10倍以上にして実験をすることが勧められている¹¹³⁾。In vitro と in vivo とで相関性がないとする報告は、このシンク状態が in vivo では不十分であることが原因である。また、難溶性の弱電解質の場合、レシーバーのpH依存的に溶解律速が生じ、経皮吸収性が低下するとの報告もある¹¹⁴⁾。著者は予備的実験において、NCの in vivo 経皮吸収性が第1編、第2章で行った in vitro の結果に比較して、著しく低いことを経験した。そこで、本編ではMEW系を用いたときのNCの in vitro/in vivo 相関について検討し、in vivo での促進剤適用上の問題点について述べる。

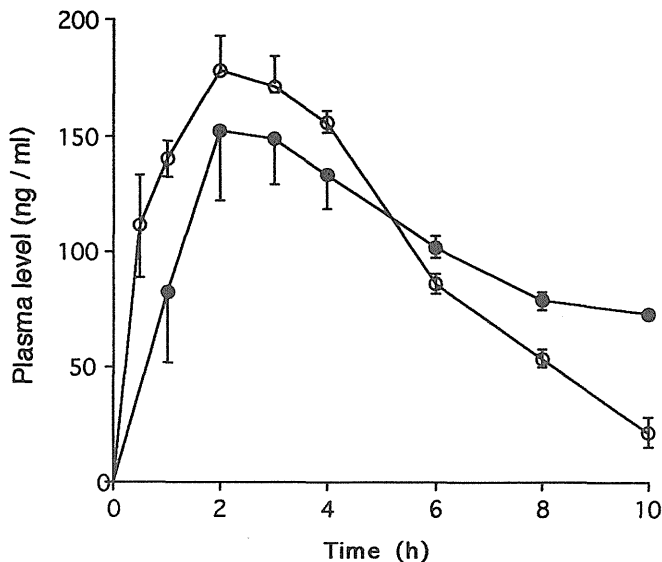


Fig. 21. Predicted (●) and observed (○) plasma concentration of morphine base after application of trial TDS (4.9 cm²) containing 12mg of MPH in rabbit.
Each value represents the mean and SE of 3 experiments.

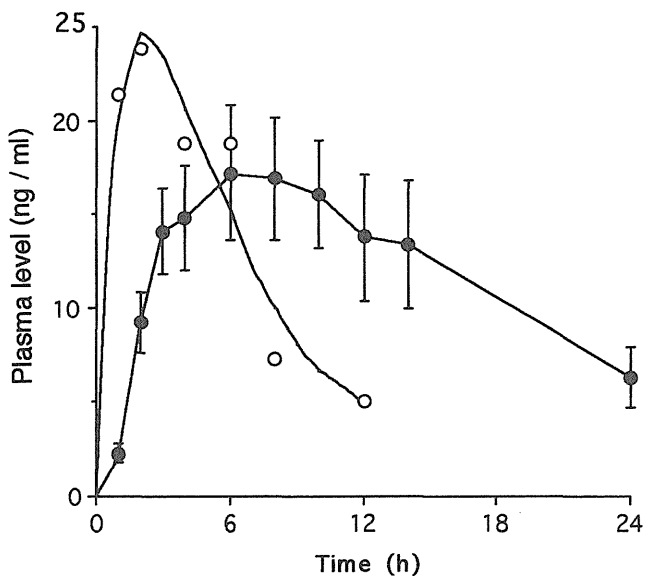


Fig. 22. Predicted (●) plasma concentration of morphine base after application of trial TDS (16 cm²) containing 30mg of MPH in human and observed (○) plasma concentration of morphine base after application of MS CONTIN[®] tablet containing 30mg morphine sulfate in cancer patient.
Each value represents the mean and SE of 3 experiments.

第1章 MEW系の in vitro/in vivo 差の検討

第1節 In vitro/in vivo 差の検討に用いるモデルの構築

生体に経皮適用された薬物が全身循環系に到達するためには、①角質層を通過し、②生きた表皮および真皮に溶解込み、③そこに存在する皮膚血管系によって取り去られなければならない。①および②は、受動拡散過程であるので、通常行われる in vitro 透過実験、すなわち、摘出皮膚の皮下組織を除去し、皮膚全層を用い、レシーバーをシンク状態にして行う透過実験で再現可能である。抵抗モデルに基づいて（第2編、第1章、第1節参照）これを表現すると次式となる。

$$1/P_{VIT} = 1/P_{SC} + 1/P_{ED} \quad (35)$$

ここでPは透過係数、下付き文字 VIT, SC および ED は、それぞれ in vitro, 角質層および生きた表皮および真皮を意味する。式を変形すると、 P_{VIT} は、

$$P_{VIT} = (P_{SC} \cdot P_{ED}) / (P_{SC} + P_{ED}) \quad (36)$$

となる。次に、in vivo の薬物透過係数 P_{VIVO} は次のように示される。

$$1/P_{VIVO} = 1/P_{VIT} + 1/P_{CB} \quad (37)$$

$$P_{VIVO} = (P_{VIT} \cdot P_{CB}) / (P_{VIT} + P_{CB}) \quad (38)$$

ここで P_{CB} は生きた表皮および真皮から皮膚血流（cutaneous blood flow）に取り込まれるときの透過係数である。

透過係数（次元：長さ／時間）は単位面積（長さ²）当たりのクリアランス

(長さ³/時間)として表現できる¹¹⁵⁾ので、(38)式は以下のように書き直すことができる。

$$P_{VIVO} = (P_{VIT} \cdot CL_{CB}/A) / (P_{VIT} + CL_{CB}/A) \quad (39)$$

$$P_{VIVO} = (P_{VIT} \cdot CL_{CB}) / (A \cdot P_{VIT} + CL_{CB}) \quad (40)$$

ここで、 CL_{CB} は薬物の皮膚血流クリアランス、 A は面積である。

薬物溶液を皮内注射し、得られた血中濃度を静注時の消失速度を用いてデコンボリューション¹¹⁶⁾すれば皮内から血流中への薬物吸収速度が得られる。さらに、この値を適用濃度で除すと薬物の皮膚血流クリアランス、 CL_{CB} が算出される。皮内注射を行った直後、皮膚には隆起が見られるため、これを薬物溶液の拡散面積、 A と仮定すれば(40)式を利用することが可能となる。

(39)および(40)式から、 $P_{VIT} \ll CL_{CB}/A$ の条件では、 $P_{VIVO} \approx P_{VIT}$ となり、薬物の経皮吸収速度は”皮膚制御”の状態¹¹⁷⁾である。一方、 $P_{VIT} \gg CL_{CB}/A$ では $P_{VIVO} \approx CL_{CB}/A$ であるため、経皮吸収速度は”血流制御”の状態となる。強力な促進剤を用いて *in vitro* の経皮吸収速度を大きく上昇させることができて、皮膚血流クリアランスの低い薬物に適用した場合、血流制御となり、皮膚へ薬物が蓄積することも推定される。

第2節 *in vitro/in vivo* 差およびその原因

まず、NCの皮膚血流クリアランスを求めるために、静注および皮内注射の実験を行った。NCの3mg/ml(10%エタノール/生理食塩液)を3mg/kgの投与量でヘアレスラット頸静脈から投与し、体内動態パラメーターを算出した。計算にはMULTI⁹⁶⁾を用いた。血漿中濃度推移は次式で表された。

$$C_p(\text{ng/ml}) = 2.07e^{-2.23t} + 0.462e^{-0.395t} \quad (41)$$

次に、1%NC溶液200 μ lをツベルクリン用注射器でヘアレスラット腹部に皮

内注射した。注射直後、注射部位に形成された隆起の面積を測定しAとした。血中濃度推移をFig. 23に示す。

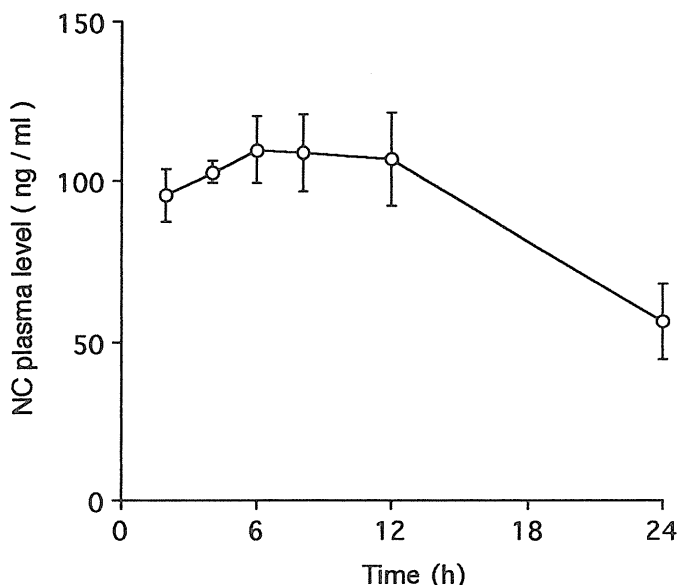


Fig. 23. Time course of plasma concentration of NC after intracutaneous injection of NC (1% NC in 40% ethanol / physiological saline, 200 μ l).

Each value represents the mean and SE of four experiments.

皮内注射後の血中濃度データと (41) 式を用いて皮膚血流クリアランスを計算した。計算には Convolution and Deconvolution Program (TTS技術研究所, 埼玉)¹¹⁶⁾を用いた。 $CL_{CB}/A = 1.67 \mu\text{l}/\text{h}/\text{cm}^2$ となった。前述したように、この値を上回る P_{VIT} を有する製剤では血流制御となり、皮膚に薬物が蓄積する可能性がある。そこで、このことを確かめるために *in vitro* 実験で数種製剤の試験を行い、 P_{VIT} が CL_{CB}/A よりも大きい製剤 (SOL) およびほぼ等しい製剤 (GEL) を調製した。そして、これらを用いて *in vivo* 経皮吸収実験を行うこととした。SOLの組成は10%NC/MEW, GELはSOLに15%の濃度になるようにヒドロキシプロピルセルロース (HPC : 150-400cps) を添加したものである。SOLおよびGELの*in vitro* 透過実験の結果をFig. 24に示す。なお, *in vitro* 透過実験はヘアレスラット腹部摘出皮膚を用い縦型セルにより行った。

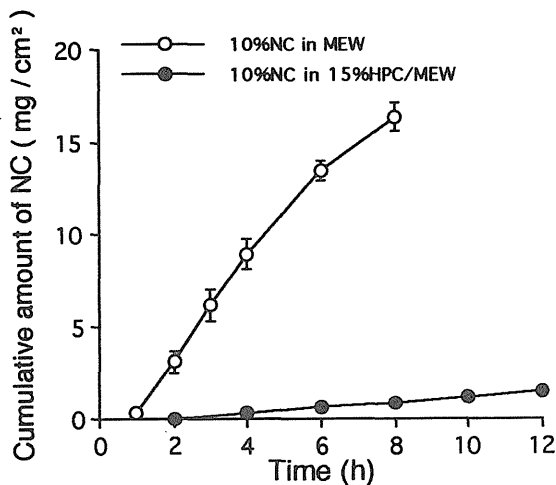


Fig. 24. In vitro permeation of NC from the SOL and the GEL through the skin.

Each value represents the mean and SE of three experiments.

SOLでは、 $P_{VIT}=23.3\mu\text{l/h/cm}^2 \gg CL_{CB}/A (1.67\mu\text{l/h/cm}^2)$ であった。一方、GELでは、 $P_{VIT}=1.48\mu\text{l/h/cm}^2 \approx CL_{CB}/A$ となった。次にこれら製剤を用いて、in vivo 透過実験を行った。ヘアレスラット腹部にSOLあるいはGELを適用し、経時的に採血をおこないNCを定量した。また、実験終了直後に適用部位の皮膚を摘出し、皮膚中NC濃度を測定した。Fig. 25に血中濃度推移を示す。In vitro 同様、GELに比べSOLで高い値を示した。これら血中濃度データと(41)式からデコンボリューションを行い、SOLおよびGELの P_{VIVO} を求めた。それぞれの値は、SOLで $P_{VIVO}=0.103\mu\text{l/h/cm}^2$ 、GELでは $P_{VIVO}=0.015\mu\text{l/h/cm}^2$ となり、極めて小さい値であった。しかしながら、皮膚中NC濃度は、SOLで 411mg/g と極めて高く、GELでは 4.3mg/g と低くSOLの1/100程度の値であった。これらの結果を要約してTable Xに示す。また、比較のために、 P_{VIVO} の予測値についても併せて示した。この予測値はin vitroの実測値である P_{VIT} と CL_{CB}/A を(39)式に代入して得たものである。

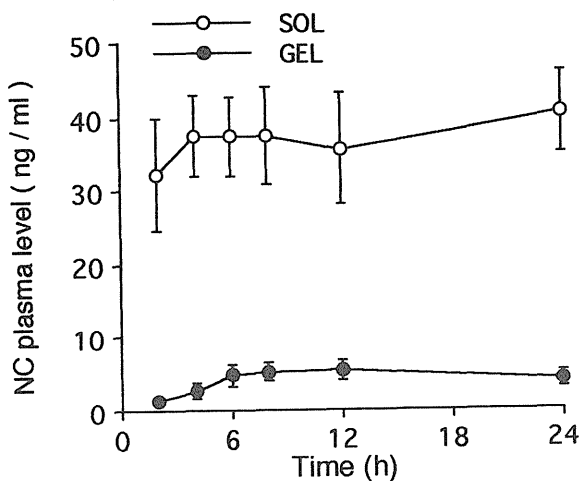


Fig. 25. Time courses of plasma concentration of NC after topical application of SOL and GEL.

The concentrations are normalized in application area of 1 cm². Each value represents the mean and SE of four experiments.

Table X. Comparison between in vitro and in vivo Permeation Data

	SOL	GEL
P_{VIT} ($\mu\text{l/h/cm}^2$)	23.3	1.48
P_{VIVO} ($\mu\text{l/h/cm}^2$)		
Observed	0.103	0.015
Estimated	1.56	0.78
Concentration		
in skin (mg/g)	411 ± 12	4.3 ± 3.5

P_{VIVO} の実測値は予測値を大きく下回った。先に述べたMPHの試作製剤では実測値と予測値とは一致した。MPHの場合 in vitro の皮膚透過速度を入力速度とし、静注後の消失速度を用いてコンボリューションを行い、得られた血中濃度の予測値が実測値と一致している。このことは、一方でMPHの入力

速度に対し、皮膚血流クリアランス (CL_{CB}/A) が非常に大きな値であることを示唆している。NCでこれが一致しないことの主たる原因として、①MEWの刺激による皮膚血流の低下および②NCの皮膚中での溶解律速が考えられた。そこで、次に①を確認するために、SOLおよびGELからNCを除いたものをヘアレスラット腹部に適用し、その部位の血流を測定した。血流測定にはレーザードップラーフローメーター(LDF: Peri Flux PF3®, Perime, Sweden)を用い、適用後30分および180分後に測定した。また対照として、適用周辺部位4点の測定値の平均を用いた。Table XI にその結果を示す。

Table XI. LDF Measurement of Skin Blood Flow after Treatment with MEW or 15%HPC in MEW

	MEW		15%HPC in MEW	
	Ref.	Appl.	Ref.	Appl.
30min	593±32	122±27	1207±111	1036±194
180min			1269±107	448± 89
Ref.:Reference site. Appl.:Application site. (Unit:mv)				

MEWの適用によって血流は30分で1/5にまで有意に低下した。また、HPCを添加した場合でも180分後には約1/3にまで低下した。LDFの出力単位はミリボルトであるが、これは血流中の細胞数/容量/時間を反映するものである。そのため血流速度の増減および血管の収縮・拡張のパラメーターと考え得る。クリアランスは血流速度に比例するため、MEW適用により皮膚血流クリアランスが低下したと考えられる。さらに血管の収縮を伴う場合は血管の表面積が減少するため、皮膚血流クリアランスの低下はさらに大きなものになると考えられた。

LDFを用いた測定によってヘアレスラットの皮膚血流の低下が、血中濃度の実測値と予測値との不一致の一因として明らかになった。しかしながら、ヒ

ト皮膚にH P Cを添加したMEWを適用した場合、180分および360分後に3～4倍の血流増加が見られた。原因は明らかではないが、MEWの皮膚刺激に対する皮膚血管系の反応の仕方にも差が認められたことを付記しておく。

次に②について調べた。NCは pK_a が約7.3の弱塩基の塩酸塩である¹¹⁴⁾。NCの水に対する溶解度はTable IIで示したように12.7mg/ml, MEWに対しては319mg/mlである。皮内のpHは約7.4であるので、pH7.4の緩衝液に対するNCの溶解度を測定したところ、2.5 μ g/mlであった。この結果は予想外に低い値であった。G E L適用時にNCの皮膚中濃度がS O Lに比べ著しく低いのはこのためと考えられた。すなわち、S O Lでは溶媒の移動に伴うNCの皮内への移動があり、次に皮内のpHの影響でNCが沈殿する。一方、G E Lでは、溶媒の移動が弱いために溶解律速の影響を大きく受けるものと推定された。そこで最後に、溶解律速をさらに検討するために、ヘアレスラットの腹部皮膚の角質層をセロテープで取り除き、ここに、数種濃度のNC溶液を適用し、経時的に血中濃度を測定した。そして、適用5時間後に一部のラットの適用溶液を取り除き、代わりにpHを1.5に調整したNC溶液を速やかに適用して、さらに血中濃度を測定した。その結果をFig. 26に示す。

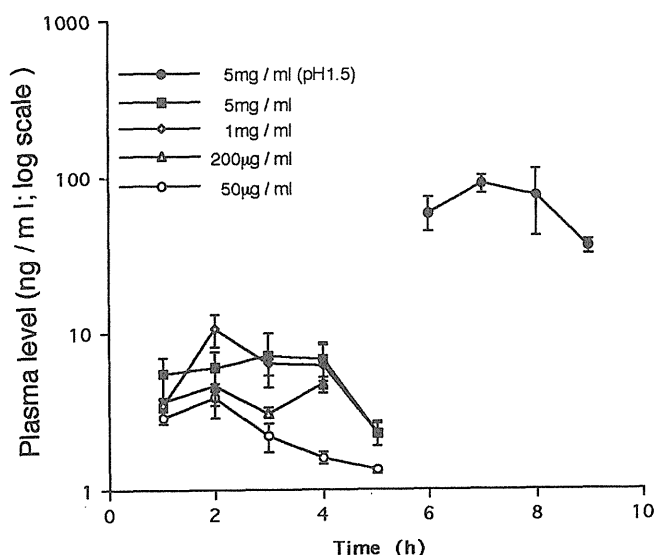


Fig. 26. In vivo absorption of NC from 10% ethanol via stripped skin.

適用後5時間までの血中濃度推移は、適用濃度が $50\mu\text{g/ml}$ から 1mg/ml までは、適用濃度の上昇に伴い高くなると考えられた。しかし、 1mg/ml と 5mg/ml では差はほとんど見られないことから、皮内での溶解律速が示唆された。また、適用液のpHを1.5にすることで血中濃度が上昇するため、その原因はNCの遊離塩基の溶解度が皮内で低いためと考えられた。

第2章 本編の考察

MEW系適用時に *in vitro* で達成できた透過速度が *in vivo* では得られない場合のあることが明らかになった。その原因の1つはMEW系の皮膚刺激に起因する血流の低下、もう1つは皮内での溶解律速である。皮膚刺激についてはMPHの試作製剤のように、処方の改良によって対処することが可能である。しかしながら、溶解律速は薬物そのものの性質に負うところが多い。そのため、TDS開発の初期の段階で、候補薬物の皮膚血流クリアランス測定が必要と考えられた。皮膚血流は生体の体温調節の目的でダイナミックに変化し、100倍近くの変動を示すことが知られている¹¹⁸⁾。In vitro において CL_{CB}/A を上回る効果を発揮する促進剤を *in vivo* に適用すると皮内に薬物が蓄積するだけでなく、血流変動の影響がそのまま血中濃度に反映されることが推定される。このことは、今後の経皮吸収促進剤の開発・応用に際して留意しなければならない重要事項と考えられる。

結 論

経皮吸収型製剤 (TDS) は非侵襲的, 非経口剤形としての特徴を有するため服薬の自己管理ができない重症患者や高齢者に対する剤形として, また, 体外デバイスから薬物投与を行うため, 投与の中断, 継続が容易であり, 長期間にわたり血中薬物濃度をコントロールする必要のある患者には極めて有用な剤形である。しかしながら, 現在までに開発されたTDSである, スコポラミン, ニトログリセリン, 硝酸イソソルビド等は低融点であるため皮膚に浸透しやすく, かつ少量で生理活性を示す物質である。そのため, 多くの薬物でTDS化を現実のものとするためには, 安全で有効な経皮吸収促進法が必須となる。

そこで, 著者は安全性が確立されている既存の医薬品等の添加物をそのまま, あるいは併用し, 経皮吸収促進剤としての能力についてスクリーニングした。その結果, 強力な促進剤併用系 ℓ -メントール-エタノール-水系(MEW系: 5% ℓ -メントール/40%エタノール) を見出した。ヘアレスラット摘出皮膚を用い, 塩酸モルヒネ (MPH) をモデル薬物として *in vitro* 透過実験を行ったとき, その促進効果は水溶液適用時の144倍, また, これまで最も強い促進剤と考えられていた Azone に比べても約5倍の促進効果を示した。次に, この促進効果が実際に薬効を得るだけの経皮吸収速度を与えるかについて, 臨床的に使用頻度の高い6種循環器官用薬 (水溶性薬物: 塩酸ニカルジピン (NC), アテノロール, カプトプリル, 脂溶性薬物: ニフェジピン, ビンボセチン, ニルバジピン) を用いて評価した。評価には, 最小有効血中濃度を得るために必要な最小投与面積 (A_{req}) を使用した。 A_{req} は, 水溶性薬物で 0.2cm^2 以下, 脂溶性薬物では 15cm^2 以下となり, 強力な促進効果が再確認され, 特に水溶性薬物の製剤化に有効と考えられた。

ここで, このように強い促進効果が得られた原因を解析するために, 皮膚を不均一な角質層 (SC) とこれに接続する生きた表皮および真皮 (ED) からなる2層膜と仮定し, この皮膚モデルに基づいて, 薬物の皮膚透過速度 (P_{FT} : 単位濃度, 単位面積当たりの透過速度) および薬物の皮膚/基剤濃

度比(C_{FT}/C_V)を表現する式を誘導した。両式とも、薬物のオクタノール／基剤分配係数(K_{ov})を独立変数とし、他に薬物の皮膚への分配および皮膚中での拡散に関する6種変数〔SCの空隙率(ϵ_{sc})、SC実質部分および空隙内の拡散係数(D_L および D_P)、EDの拡散係数(D_{ED})、線形自由エネルギー相関に基づく分配係数の補正項AおよびB〕を含む関数である。なお、AおよびBはそれぞれ皮膚への溶媒の移行性および皮膚の極性変化を表すパラメーターと考えることができる。すなわち、促進剤存在下、 K_{ov} の異なる数種薬物を用いて皮膚透過実験を行い、 P_{FT} および C_{FT}/C_V を求め、これらの値に対して2本の式を曲線回帰すれば、促進剤固有の6種変数の組み合わせが得られる。ただし、 ϵ_{sc} と D_P の変動は P_{FT} および C_{FT}/C_V の変動に対して類似の影響を及ぼすことがシミュレーションにより示されたため、両者は積の形($\epsilon_{sc}D_P$)として評価することとした。 $\epsilon_{sc}D_P$ の増減は皮膚透過全体に対するpore(空隙)の寄与の増減として受けとめることができる。実験の結果、MEW系の成分である ℓ -メントール(MW:5% ℓ -メントール/水)は、①基剤溶媒の皮膚への移行増加、②角質層実質部分の薬物拡散性増大、および③空隙透過の寄与増加を示した。一方、エタノール(EW:40%エタノール)は、④皮膚極性の上昇、⑤基剤中薬物溶解度の増加、および③の作用を持つことが明らかとなり、この両者を併用するMEW系は①～⑤の全ての作用を有していた。また、①および③の作用については基剤成分である水あるいはエタノールの皮膚透過性が増大することからも裏付けられた。

次に、MEW系の作用がヘアレスラットおよびヒト皮膚で異なることに着目し、この現象をMEW系の作用機構に関連付けて検討した。ヒト皮膚はヘアレスラットとは異なり、MWあるいはEWでは促進効果が弱くMEW系使用時に初めて強い促進効果の現れることが明らかになった。この原因はSCのバリアー能の本体である脂質の溶出性がヘアレスラットとヒト皮膚とで異なることにありと推定された。すなわち、促進効果と皮膚表面から基剤溶媒中への脂質の溶出量には相関性が見られ、促進効果の強さおよび溶出量のいずれにおいても、ヘアレスラットでは、 $EW < MW < MEW$ 系、ヒトでは、 $MW = EW < MEW$ 系、の順であった。また、角質層の構成脂質の1つであるコレ

ステロールの溶解度($\mu\text{g}/\text{ml}$)は、EW(8.1)<MW(20.8)<<MEW系(683)となり、ヒト皮膚での促進剤のランクオーダーと一致した。このことから、本研究で用いた促進剤の効果の本質が、角質層構成脂質との親和性にあることが示唆された。また、MEW系をヒト皮膚に適用したとき、透過物質の種類によらず一定のラグタイムが得られる原因は、速度論モデルを用いた解析の結果、角質層からの脂質の溶出に伴う経時的バリアー能の低下から説明可能と考えられた。

最後に、*in vitro/in vivo* 差について検討した。MEW系に皮膚刺激をおさえるための修飾を加え、MPHを含有させた試作製剤では *in vitro/in vivo* の経皮吸収性はほぼ一致する。しかしながら、MEW系そのもの、およびNCを用いた実験では、*in vivo* 吸収性は極めて低下し、皮膚に薬物が蓄積した。この原因は、レーザードップラー血流計を用いた実験からMEW系の皮膚刺激による皮膚血流クリアランスの低下、およびNCの皮内への溶解律速と考えられた。NCは弱塩基の塩酸塩であり、MEW系に対する溶解度は $319\text{mg}/\text{ml}$ と高いものの、皮内のpH約7.4では $2.5\mu\text{g}/\text{ml}$ へと著減する。NCの $\text{p}K_a$ は約7.3であるため、遊離塩基の低い溶解性が原因と考えられた。皮内注射と静注実験の結果から算出したNCの皮膚血流クリアランスは $1.67\mu\text{l}/\text{h}/\text{cm}^2$ となり、この値はMEW系適用時の *in vitro* P_{FT} , $23.8\mu\text{l}/\text{h}/\text{cm}^2$ に比べて低いものであった。このような場合、*in vitro* で達成された促進効果が *in vivo* で達成されないだけでなく、皮膚に薬物が蓄積する。TDS開発における薬物の選定に際しての留意事項として、皮膚血流クリアランスの概念は重要である。

以上、MEW系の発見、応用性、作用機構の解析および *in vitro/in vivo* 差について検討した。本研究において構築されたモデルあるいは評価系は種々の促進剤の促進効果の予測を可能にしており、今後の促進剤の併用や製剤の合理的設計に利用するとき、極めて有用な情報を提供するものと思われる。

謝 辞

本研究に際し、研究テーマの設定から結論に至るまで、終始御懇篤なる御指導ならびに御鞭撻を賜りました城西大学薬学部教授 森本雍憲先生に深甚なる謝意を表します。

また、御指導ならびに御激励を賜りました城西大学薬学部助教授 杉林堅次先生に深謝いたします。

さらに、本研究の機会を与えられ、終始御指導と御助言を賜りました埼玉医科大学総合医療センター薬剤部長 木村昌行先生に感謝の意を表します。

また、ヒト皮膚を用いた実験に御理解と御助言を賜りました埼玉医科大学総合医療センター教授 小林正幸先生に深く感謝いたします。

最後に、本研究の一部に有益な御助言と御協力を戴きました城西大学薬学部 夏目秀視助手、関俊暢助手、沼尻幸彦助手、富山医科薬科大学 日野朋美助手、ならびに城西大学製剤学教室、埼玉医科大学総合医療センター薬剤部 および T T S 研究所の諸氏に感謝いたします。

実験の部

第1編 実験の部

1. 実験材料

塩酸モルヒネ (MPH) は武田薬品工業 (株), 塩酸ナロキソン (NX) はシグマ社, ニフェジピン (NF) は和光純薬工業 (株) から購入した。カプトプリル (CPT) は三共 (株), ニルバジピン (NL) は藤沢薬品工業 (株), 塩酸ニカルジピン (NC) は日産化学工業 (株), アテノロール (ATL) は救急薬品工業 (株), ビンボセチン (VIN) は幸和薬品工業 (株) およびニトレンジピン (NT) は吉富製薬 (株) から提供された。 ℓ -メントールは局方品を用いた。Azoneは住商ネルソン社から供与された。Sefsol-318は日光ケミカルズ (株) から購入した。エタノール, ミリスチン酸イソプロピル, ℓ -カルボンは和光純薬工業 (株) から試薬特級を購入して使用した。CPT定量のための蛍光ラベル, N-(1-Pyrene)Maleimide (NPM) は和光純薬工業 (株) から購入した。重水 (D_2O) はメルク社から, エタノール- d_6 (EtOD) はアルドリッチ化学から購入した。その他の試薬は市販特級もしくは高速液体クロマトグラフ用を購入して用いた。

2. 実験動物

雄性のヘアレスラット (WBN/ILA-Ht, 7-8週令, 160-200 g) を埼玉実験動物 (株) より購入, もしくは城西大学生命科学研究センターから分与されて使用した。

3. 皮膚の調製

ヘアレスラットの腹部皮膚をペントバルビタールナトリウム (ネンブタール[®] 注射液, 大日本製薬) 麻酔下 (50mg/kg, i. p.), 透過実験用のセルの外径に合わせて丸く切り取り, 皮下組織および脂肪を切除して実験に供した。

ヒト皮膚は埼玉医科大学総合医療センターにおいて, 胸部外科手術時に摘出

された43-74才の女性のものを用いた。使用直前まで、 -20°C にて保存し、解凍後真皮側を鋏みでスライスして、厚みを $750\mu\text{m}$ に調製した。セルにマウントした後真皮側のみに蒸留水を適用し、約8時間スターラーで攪拌して洗浄を行った後、実験に使用した。

4. In vitro 透過実験

In vitro 透過実験はOkumuraらの方法^{5,6)}に従い行った。予め 37°C の水を循環させた有効拡散面積 0.95cm^2 の2チャンバー拡散セルに皮膚を挟み、レシーバー側のセルには水あるいは40%ポリエチレングリコール400溶液を、ドナー側のセルには薬物溶液もしくは懸濁液をそれぞれ2.5ml加えた。ドナーには必要に応じて経皮吸収促進剤を添加した。ドナーおよびレシーバー内にはスターヘッドスターラーを入れ、マグネチックスターラー（マルチスターラー[®] MC301, サイニックス(株)）をセルに密着させ、1200rpmで攪拌した。経時的にレシーバー側から液を採取し、同容量のレシーバー液（水あるいは40%ポリエチレングリコール400溶液）を補充した。採取量は透過物質（薬物、 ℓ -メントール、 D_2O あるいはE t O D）のドナーとレシーバーの濃度差が10倍以上になるように調節した¹¹³⁾。

CPTは酸化されてダイマーを形成しやすいため実験に用いた水は全て窒素でバブルし、酸化防止剤として1mMのアスコルビン酸およびEDTA 2Naを加えた¹¹⁹⁾。また、透過実験前2時間にわたり、この水を用いて皮膚を還流した。

NC, NFおよびNLは遮光して実験を行った。

なお、水溶性薬物は溶液として適用し、レシーバーには水を、脂溶性薬物は懸濁液として適用し、レシーバーには40%ポリエチレングリコールを使用した。

5. 溶解度の測定

薬物あるいは ℓ -メントールの過剰量を水、MEW系、エタノール水溶液もしくはオクタノールに加え、 37°C の恒温槽中で24時間攪拌した。次に5-6時間の間隔でその一部を採取し、水の場合は酢酸セルロースメンブランフィルター（アド

バンテック東洋(株))で、エタノールあるいはオクタノールを含む溶媒の場合は F R-20メンブランフィルター (富士フィルム(株))で濾過した。濾液を水またはメタノールで適当に希釈し、定量した。平衡時の薬物濃度を溶解度とした。

6. 薬物の定量

C P Tは蛍光誘導体を作成して定量した。試料を遠心分離した後、上清100 μ l および2mMのNPMアセトン溶液50 μ lをp H7.4リン酸緩衝液2mlに滴下し、正確に15分間攪拌後、速やかにその一部をH P L Cにアプライした。

N Lは濃縮・精製して定量した。試料2mlおよび200 μ g/mlのN Tメタノール溶液100 μ lをp H9.0リン酸緩衝液2mlに加え、さらに、ベンゼン-ヘキサン混液(1:1) 2mlを加えた後、15分間振盪抽出した。遠沈して上層をとり、窒素気流下蒸発乾固し、これに移動相を加え再構築したものをH P L Cにアプライした。

その他の薬物は試料に同容量のメタノールを加えて攪拌し、遠沈後上清の一部をH P L Cにアプライした。

H P L Cの装置を以下に示す。

ポンプ : L C-6 A (島津製作所(株))

検出器 : S P D-6 AもしくはR F-5 3 5 (島津製作所(株))

データ処理 : C-R 6 A

カラム : Nucleosil 5C₁₈ (Macherey Nagel社) 4.6 \times 250mm

H P L C定量条件をTable XIに示した。

7. E t O Dの定量

E t O Dはガスクロマトグラフ (G C)で定量した。100 μ lの試料に一定量のn-propanol(内標)を含む蒸留水100 μ lを加え、遠沈後、上清1 μ lをG C(G C-6 A, 島津製作所(株))にアプライした。測定条件は、カラム : Gasukuropak 54 (島津製作所(株)), カラム温度:140 $^{\circ}$ C, インジェクション温度:180 $^{\circ}$ C, 検出器温度:180 $^{\circ}$ C, キャリアガス:N₂, 流速:50ml/min。

8. D₂Oの定量

D₂O濃度は赤外吸収分光光度計 (IR-450, 島津製作所(株)) で〔-OD〕濃度を測定した後、これからE t OD濃度分の〔-OD〕を差し引き、D₂O濃度に換算して求めた¹²⁰⁾。〔-OD〕の測定条件は、セル：C a C F₂, 光源距離：0.025mm, ウインドウ：直径30mm×4mm, 検出波数：2515cm⁻¹。

9. ℓ-メントールの定量

ℓ-メントールはGCで定量した。試料に一定量の ℓ-カルボン(内標)を含む同容量のジオキサンを加え、攪拌、遠沈後上清1μlをGCにアプライした。測定条件は、カラム：OV-17(GLサイエンス(株)), カラム温度：130℃, インジェクション温度：160℃, 検出器温度：160℃, キャリアガス：N₂, 流速：50ml/min。

Table XII. HPLC Conditions for the Analysis of Drugs Used in this Experiment

Drug	Mobile phase	Detection(nm)	I. S.
MPH	AN ^{a)} :0.1%PA ^{b)} (35:65)+5mM SDS ^{c)}	UV 230	NX
NC	AN:0.02M potassium phosphate monobasic(60:40)	UV 240	NT
ATL	Methanol:1%PA(60:40)+2.5mM SDS	Ex. 280, Em. 333	__d)
CPT	AN:0.1%PA(47:53)	Ex. 340, Em. 390	__d)
NF	AN:Water(40:60)	UV 235	NT
VIN	AN:0.1%PA(60:40)+5mM SDS	UV 229	p-hydroxy- benzoic acid hexyl ester
NL	AN:Water(60:40)+1%PA5.25ml/l +ammonium phosphate2.5g/l +10%tetra-n-butylammonium hydroxide 10ml/l	UV 254	NT

a)AN:Acetonitrile, b)PA:Phosphoric acid, c)SDS:Sodium dodecylsulfate

d)Absolute calibration method was used.

第2編 実験の部

1. 実験材料

硝酸イソソルビド (ISDN) は東光薬品工業 (株) から供与された。トリオレイン, コレステロールおよびバニリンは和光純薬工業 (株) から購入した。その他の試薬は第1編1. と同様のものを用いた。

2. 実験動物

第1編2. と同じものを用いた。

3. 皮膚の調製

第1編3. と同様に行った。

4. In vitro 透過実験

第1編4. と同様にして行った。

5. 皮膚中薬物濃度の測定

透過実験終了直後, 皮膚を水洗して表面に付着した薬物を除き, 洗液をふきとった。有効拡散部分 0.95cm^2 を打ち抜き重量測定後, 鋏みで細かくきざみ, 内標を含んだ (ATLでは内標を含まない) メタノール溶液 2ml を加え, 氷冷下ホモジナイズした。遠沈後, 上清をとりHPLCにアプライした。皮膚中濃度測定の検量線は, 0.95cm^2 の摘出皮膚の重量測定後, 鋏みで細かくきざみ, 内標および既知量の薬物を含むメタノール溶液 (ATLでは内標を含まない) 2ml を加えてホモジナイズを行い, ホモジネートの上清を用いて作成した。

6. 皮膚中エタノールおよび ℓ -メントールの測定

5. と同様にして皮膚を打ち抜き重量を測定した後, 0.5% メタノール/ 0.1% ℓ -カルボン/ジオキサンに浸し10分間超音波照射 (Branson, BM-12, ヤマト科

学)した。遠沈後、上清をとり、エタノールはGC-TCDで、*l*-メントールは第1編9.と同様にして定量した。検量線用の試料は、0.5%メタノール/0.1%*l*-カルボン/ジオキサンに既知量のエタノールあるいは*l*-メントールを添加したものを、0.95cm²の摘出皮膚に加え超音波照射を行い、遠沈後の上清を使用して調製した。

7. 皮膚からの脂質溶出実験

ISDNを含まない基剤(5%*l*-メントール、40%エタノールもしくは5%*l*-メントール/40%エタノール/水(MEW系))中への脂質の溶出量を経時的に測定した。透過実験と全く同様にして、ヘアレトラット皮膚もしくはヒト皮膚をセルにマウントし、ドナー液(基剤)およびレシーバー液(水)の全量を、実験開始後5、10および30分、1、2、4、6および8時間に取り去り、新たに、同量の基剤および水を速やかに充填した。

8. 角質層シートの調製

有効拡散面積4.5cm²のハーフセルに、ヒトあるいはヘアレスラット皮膚を、真皮側を内側にしてマウントし、セルに水を満たした。角質層側を下に向け、攪拌して約4日間放置した。角質層と生きた表皮の間に水の溜まりを確認した後、ピンセットで角質層を剥離した。

9. 角質層脂質の抽出

角質層からの脂質の抽出はKnutsonらの方法に従った¹²¹⁾。剥離した角質層シートをメタノール-クロロホルム混液(2:1)1mlに浸し5分間超音波照射を行った。同様の操作を2回行い、液を合わせ、遠沈後その1mlをとり、窒素気流下50℃で蒸発乾固した。エタノール0.2mlで再構築し、総脂質定量用の試料とした。

10. 溶解度の測定

第1編5.と同様に行った。コレステロールについても同様の方法を用いた。

1 1. 薬物の定量

MPH, ATL, NFおよびVINは第1編6.と同様に定量した。

ISDNはHPLCで測定した。試料に同容量の ethyl p-hydroxybenzoate (内標) を含むメタノール溶液を加え、遠沈後、上清をHPLCにアプライした。HPLCの装置は第1編6.と同様のものを用いた。検出器はUV 220nmで行った。

1 2. エタノールの定量

皮膚から抽出したエタノールの定量はGC-TCDにより行った。測定条件は、カラム: 10% PEG 1000/Flusin T 60/80 (GLサイエンス(株)), カラム温度: 95°C, インジェクション温度: 140°C, 検出器温度: 140°C, キャリアガス: He, 流速: 50ml/min。

1 3. EtODの定量

第1編7.と同様に行った。

1 4. D₂Oの定量

第1編8.と同様に行った。

1 5. *l*-メントールの定量

第1編9.と同様に行った。

1 6. 総脂質の定量

総脂質はKnightらの方法に従って定量した¹²²⁾。ドナー溶液を試料とする場合は、乳濁した*l*-メントールを溶解させるために同用量のエタノールを加え澄明な1相の液とした後、この1mlをとり、*l*-メントール臭がしなくなるまで、沸騰水浴中で蒸発乾固した。角質層脂質と同様エタノール0.2mlで再構築し、これを定量用試料とした。試料に0.3mlの濃硫酸を加え沸騰水浴中で5分間加熱し、室温まで冷却した後、2mlのphosphovanillin 試液(0.6% w/v aqueous vanillin

solution/phosphoric acid=1:4)を加え37℃で15分間インキュベートした。分光光度計 (U 3200, 日立) を用い, 535nmの吸光度を測定した。コレステロールとトリオレインの混合物(3:1)を標準試料とした。

17. コレステロールの定量

コレステロールの定量はAllainらの方法に従った¹²³⁾。試料200 μ lを窒素気流下100℃で蒸発乾固(ℓ -メントールを含む場合は ℓ -メントール臭がしなくなるまで)し, これに10%P8P/ミリスチン酸イソプロピル溶液100 μ lを加えて再構築した。この液の一部 (10~30 μ l)をとり, 発色剤 (ワコーコレステロールC₂キット, 和光純薬工業(株)) 3mlを加え37℃, 15分間インキュベートした後, 分光光度計 (U 3200, 日立)で500nmの吸光度を測定した。

第3編 実験の部

1. 実験材料

NCの血中濃度測定の内標, YC-204は山之内製薬(株)から提供された。その他の試薬は第1編1.と同様のものを用いた。

2. 実験動物

第1編2.と同様のものを用いた。

3. 皮膚の調整

第1編3.と同様の方法で行った。

4. ドナー試料の調整

10%NC/MEW系をSOLとして用いた。SOLに15%の濃度で hydroxy propyl cellulose(HPC, 150~400cps)を加え, 多孔性ポリプロピレン膜 (セルガード®, ダイセル工業) に封入 (2cm \times 2cm)したものをGELとして使用した。GELはHPC添加後密栓して2~3日放置し, 均一となったものを使用した。

5. In vitro 透過実験

In vitro 透過実験は縦型セル¹²⁴⁾を用いて行った。SOLの場合は有効拡散面積が 0.95cm^2 、レシーバー用量が 4.5ml 、GELでは、それぞれが 2.54cm^2 および 4.5ml のセルを使用した。SOLではセルに皮膚をマウントした後、ドナーにその 1ml を適用し、密栓して実験を行った。GELでは、皮膚とGELの接触が不十分にならないようにするため、皮膚とレシーバーセルとの間に凸型の金網を挿入した。皮膚の上から、GEL（膜に封入された状態）を適用しその上からサランラップ®（旭化成工業（株））およびアルミ箔をかぶせクランプで固定した。経時的にレシーバー液を採取し、同用量の水を補充した。その他の条件は第1編4.と同様にして行った。

6. In vivo 透過実験

ヘアレスラットを背位固定し、その腹部に、アロンアルファA®（三共（株））を用いて内径 10mm のテフロン製の円筒を接着した。SOL 1ml を適用し、密栓した。GELは腹部に適用したのちアルミ箔で覆い、周囲をアロンアルファAで接着・固定した。経時的に頸静脈から $200\mu\text{l}$ を採血した。

7. In vivo stripped skin 透過実験

ヘアレスラットを背位固定し、 0.95cm^2 の円形の穴をあけた台紙（テープが接着しないような素材のもの）を腹部に密着させ、この上からセロテーで20回、角質層を剥離した¹²⁶⁾。6.と同様の方法でテフロン製の円筒を皮膚に接着し、各種濃度のNC溶液（10%エタノール溶液） 1ml を適用し、経時的に頸静脈から $200\mu\text{l}$ を採血した。

8. 皮膚中濃度の測定

In vitro 透過実験の場合は第2編5.と同様の方法で行った。In vivo では、透過実験終了直後に、SOLもしくはGELを取り除き、適用部位の皮膚を流水で洗浄した後、ペントバルビタール麻酔下摘出した。ホモジナイズ以降の処

理は in vitro と同様に行った。

9. NCの静注実験

NCの生理食塩溶液 (3mg/ml) を 3mg/kg で頸静脈から注射した。経時的に対側の頸静脈から200 μ lを採血し定量した。

10. NCの皮内注実験

1%NC溶液200 μ lをヘアレスラット腹部の皮内に、ツベルクリン用注射器を用いて注射した。皮内から注射針を抜き去るとき、注射液が漏れないように、アロンアルファAを滴下して刺入部位の穴をふさいだ。経時的に頸静脈から採血を行い定量した。

11. 血流測定

レーザードップラー血流計, Peri Flux PF3[®] (Perimed) を用い, NCを含まないSOLもしくはGEL適用部位の血流を測定した。ラットの体動に注意しながらプローブを皮膚に密着させ, 少なくとも5秒以上一定の血流速度が維持することを条件として, 数値を読み取った。対象として, 適用周辺部位4か所の血流も測定した。

12. NCの定量

皮膚中濃度および in vitro透過実験の試料は第1編6. と同様の方法で定量した。血中NC濃度の測定は, S. Kobayashiの方法¹²⁵⁾ に従った。100 μ lの血漿試料に同容量のYC-204溶液(0.1Mリン酸緩衝液(pH7.4) : 無水エタノール=20:1)を加え攪拌後, さらに, 3mlの抽出溶媒(エーテル:n-ヘキサン=1:1)を加えて15分間振盪抽出した。遠沈後上清をとり, 窒素気流下蒸発乾固し, これに移動相を加え再構築した。HPLCの条件は, カラム: LiChrosorb Si-60 (メルクジャパン社), 移動相: c-hexane-chloroform-absolute ethanol(20:5:1), 検出波長: UV 254nm。装置は第1編6. と同様のものを用いた。

引用文献

- 1) 中野眞汎, 森本雍憲, 杉林堅次, "ドラッグデリバリーシステム", 南山堂, 東京, 1982.
- 2) 古武敏彦, 現代医療, 22, 1378 (1990).
- 3) H. Okada, T. Heya, Y. Ogawa, H. Toguchi and T. Shimamoto, *Pharm. Res.*, 8, 583 (1991).
- 4) 山田安彦, 伊賀立二, 月刊薬事, 7, 1378 (1990).
- 5) 前田 浩, 癌と化学療法, 21, 907 (1994).
- 6) 瀬崎 仁, ファルマシア, 29, 1245 (1993).
- 7) V.V. Ranade, *J. Clin. Pharmacol.*, 29, 685 (1989).
- 8) 宮尾興平, "ドラッグ・デリバリー・システムの実際", 医薬ジャーナル社, 東京, 1986, p. 68.
- 9) A. Kydonieus ed., "Treatise on Controlled Drug Delivery", Marcel Dekker, New York, 1992, p. 341.
- 10) V.V. Ranade, *J. Clin. Pharmacol.*, 31, 401 (1991).
- 11) B.W. Barry, "Dermatological Formulations", Marcel Dekker, New York, 1983.
- 12) 小西良二, 月刊薬事, 25, 247 (1983).
- 13) Y.C. Huang, P.R. Kesharey and Y.W. Chien, *Drug Develop. Ind. Pharm.*, 11, 1255 (1985).
- 14) 田中 修, 千田 敏, 木村哲夫, 斎藤輝男, 加藤隆一, 臨床薬理, 13, 463 (1982).
- 15) V.P. Shah, N.W. Tymes and J.P. Skelly, *Pharm. Res.*, 6, 346 (1989).
- 16) H.D. Ross, K.K. Chan, A.J. Piraino and V.A. John, *Pharm. Res.*, 8, 385 (1991).
- 17) J.C. Findlay, V.A. Place and P.J. Snyder, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 64, 266 (1987).
- 18) C.R. Behl, S. Kumar, A.W. Malick, S. DelTerzo, W.I. Higuchi and

- R.A. Nash, J. Pharm. Sci., 78, 355 (1989).
- 19) Y. W. Chien, O. Siddiqui, W.-M. Shi, P. Lelawongs and J.-C. Liu, J. Pharm. Sci., 78, 376 (1989).
 - 20) R. Brucks, M. Nanavaty, D. Jung and F. Siegel, Pharm. Res., 6, 697 (1989).
 - 21) M.R. Prausnitz, V.G. Bose, R. Langer and J.C. Weaver, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, 10504 (1993).
 - 22) 杉林堅次, 薬物動態, 2, 71 (1987).
 - 23) M.B. Sulzberger, T.A. Corlese, L. Fishman, H.S. Wiley and P. Peyakovich, Ann. N. Y. Acad. Sci., 141, 437 (1967).
 - 24) W.E. Sprott, Trans. St. John's Hosp. Dermatol. Soc., 51, 186 (1965).
 - 25) U.G. Dalvi and J.L. Zats, J. Soc. Cosmet. Chem., 32, 87 (1981).
 - 26) E.R. Cooper, J. Pharm. Sci., 73, 1153 (1984).
 - 27) Y. Ozawa, T. Yamashita, H. Sunada and T. Nadai, Chem. Pharm. Bull., 36, 2145 (1988).
 - 28) R.B. Stoughton, Drug Develop. Ind. Pharm., 9, 725 (1982).
 - 29) K. Sugibayashi, K. Hosoya, Y. Morimoto and W. I. Higuchi, J. Pharm. Pharmacol., 37, 578 (1985).
 - 30) Y. Adachi, K. Hosoya, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, Chem. Pharm. Bull., 36, 3702 (1988).
 - 31) O. Wong, J. Huntington, R. Konishi, J.H. Rytting and T. Higuchi, J. Pharm. Sci., 77, 967 (1988).
 - 32) O. Wong, N. Tsuzuki, B. Nghiem, J. Kuehnhoff, T. Itoh, K. Masaki, J. Huntington, R. Konishi, J.H. Rytting and T. Higuchi, Int. J. Pharm., 52, 191 (1989).
 - 33) T. Aoyagi, O. Terasima, N. Suzaki, K. Matsui and Y. Nagase, J. Controlled Rel., 13, 63 (1990).
 - 34) T. Aoyagi, M. Yamamura, K. Matsui and Y. Nagase, Drug Design

- Discov., 8, 47 (1991).
- 35) L.K. Pershing, L.D. Lambert and K. Knutson, *Pharm. Res.*, 7, 170 (1990).
 - 36) R.M. Gale, E.S. Lee, L.T. Taskovich and S.I. Yum, US Patent 4588580, 1986.
 - 37) E.R. Cooper, *J. Pharm. Sci.*, 73, 1153 (1984).
 - 38) K. Sugibayashi, C. Skanoue and Y. Morimoto, *Selective Cancer Therap.*, 5, 119 (1989).
 - 39) M. Hori, S. Satoh and H.I. Maibach, *J. Pharm. Pharmacol.*, 42, 71 (1990).
 - 40) K.M. Foley, *N. Engl. J. Med.*, 313, 84 (1985).
 - 41) T. Hatanaka, M. Inuma, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, *Chem. Pharm. Bull.*, 38, 3452 (1990).
 - 42) Y. Morimoto, K. Sugibayashi, D. Kobayashi, H. Shoji, J. Yamazaki and M. Kimura, *Int. J. Pharm.*, 91, 9 (1993).
 - 43) D. Kobayashi, T. Matsuzawa, K. Sugibayashi, Y. Morimoto, M. Kobayashi and M. Kimura, *Biol. Pharm. Bull.*, 16, 254 (1993).
 - 44) P.M. Elias, *J. Controlled Rel.*, 15, 199 (1991).
 - 45) 山村雄一, 久木田淳, 佐野栄春, 清水 眞, (編), "現代皮膚科学大系", 中山書店, 東京, 1982, 3A, p. 49.
 - 46) B.W. Barry, *J. Controlled Rel.*, 6, 85 (1987).
 - 47) B.W. Barry, *J. Controlled Rel.*, 15, 237 (1991).
 - 48) 世界保健機関編, 武田文和訳, "がんの痛みからの解放", 金原出版株式会社, 東京, 1987.
 - 49) "医薬ランキング", 株式会社ミクス, 東京, 1992.
 - 50) J.J. Savarese, G.B. Thomas, H. Homesley and C.S. Hill, *Clin Pharmacol. Ther.*, 43, 376 (1988).
 - 51) M. Okumura, Y. Nakamori, Y. Yoshida, H. Niwa, K. Sugibayashi and M. Morimoto, *Drug Design Deliv.*, 6, 137 (1990).

- 52) J. Priborsky, K. Takayama, E. Muhlbachova and T. Nagai, *Yakuzaigaku*, 51, 123 (1991).
- 53) Y. Obata, K. Takayama, Y. Machida and T. Nagai, *Drug Design Discov.*, 8, 137 (1991).
- 54) M. Okumura, Y. Nakamori, Y. Yoshida, H. Niwa, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, *Drug Design Deliv.*, 6, 137 (1990).
- 55) K. Sato, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, *J. Pharm. Sci.*, 80, 104 (1991).
- 56) M. Okumura, K. Sugibayashi, K. Ogawa and Y. Morimoto, *Chem. Pharm. Bull.*, 37, 1404 (1989).
- 57) 一番ヶ瀬 尚, "新しい製剤学", 広川書店, 東京, 1994, pp.171-177.
- 58) E. Cook, G.G. Clifton, R. Vargas, G. Bienvenu, R. Williams, N. Sambol, G. McMahon, S. Grandy, C. Lai, C. Quon, C.R. Anderson, P. Turlapty and J.D. Wallin, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 47, 706 (1990).
- 59) F.J. Conway, J.D. Fitzgerald, J. McCainsh, D.J. Roqlands and W.T. Simpson, *Br. J. Pharmacol.*, 3, 267 (1976).
- 60) W.D. Mason, N. Winer, G. Kochank, I. Cohen and R. Bell, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 25, 408 (1979).
- 61) R.J. Cody, G.L. Schaer, A.B. Covit, K. Pondolfino and G. Williams, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 32, 721 (1982).
- 62) C.H. Kleinbloesem, P. van Brummelen, J.A. van de Linde, P.J. Voogd and D.D. Breimer, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 35, 742 (1984).
- 63) 葛谷文雄, *薬理と治療*, 10, 1931 (1982).
- 64) W. Hammes and R. Weyhenmeyer, *J. Chromatogr.*, 413, 264 (1987).
- 65) T. Umeda, S. Naomi, D. Iwaoka, J. Inoue, M. Ohno, S. Hamazaki, F. Miura and T. Sata, *Jpn. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, 17, 735 (1986).
- 66) M. Terakawa, Y. Tokuma, A. Shisido and H. Noguchi, *J. Clin. Pharmacol.*, 27, 111 (1987).

- 67) A. Martin, "Physical Pharmacy", Lea & Febiger, Philadelphia, 1993, p. 327.
- 68) G.L. Flynn, S.H. Yalkowski and T.J. Roseman, J. Pharm. Sci., 63, 479 (1974).
- 69) Z. Liron and S. Cohen, J. Pharm. Sci., 73, 538 (1984).
- 70) 鈴木泰三, 星猛, 鈴木裕一 (訳), "生体膜輸送の基礎", 東京化学同人, 東京, 1982, p. 163.
- 71) E. Nakashima, F. Ishikawa, H. Sato, Y. Deguchi, I. Tamai, R. Matsushita, F. Ichimura and A. Tsuji, J. Pharm. Sci., 77, 481 (1988).
- 72) T. Hatanaka, M. Oguchi, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, Chem. Pharm. Bull., 39, 1802 (1991).
- 73) 星猛, 木村尚史, 丹沢宏, "人工膜", 化学同人, 京都, 1981.
- 74) R. Kadir, D. Stempler, Z. Liron and S. Cohen, J. Pharm. Sci., 76, 774 (1987).
- 75) R. Kadir, D. Stempler, Z. Liron and S. Cohen, J. Pharm. Sci., 77, 409 (1988).
- 76) D. Kobayashi, T. Matsuzawa, K. Sugibayashi, Y. Morimoto and M. Kimura, Pharm. Res., 11, 96 (1994).
- 77) K. Sugibayashi, D. Kobayashi, E. Nakagaki, T. Hatanaka, N. Inoue, S. Kusumi, M. Kobayashi, M. Kimura and Y. Morimoto, Int. J. Pharm., 113, 189 (1995).
- 78) F. Yamashita, T. Yoshioka, Y. Koyama, H. Okamoto, H. Sezaki and M. Hashida, Biol. Pharm. Bull. 16, 690 (1993).
- 79) B.J. Aungst, J.A. Blake and M.A. Hussain, Pharm. Res., 7, 712 (1990).
- 80) A.C. Williams and B. W. Barry, Pharm. Res., 8, 17 (1991).
- 81) K. Knutson, S.L. Krill and J. Zhang, J. Controlled Rel., 11, 93 (1990).

- 82) D. Bommannan, R.O. Potts and R.H. Guy, *J. Controlled Rel.*, 16, 299 (1991).
- 83) V.H.W. Mak, R.O. Potts and R.H. Guy, *Pharm. Res.*, 8, 1064 (1991).
- 84) P. Xu and Y.W. Chien, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 8, 211 (1991).
- 85) A. Leo and C. Hansch, *J. Org. Chem.*, 36, 1539 (1971).
- 86) C.G. Pitt, Y.T. Bao, A.L. Andrady and P.N.K. Samuel, *Int. J. Pharm.*, 45, 1 (1988).
- 87) B.D. Anderson, W.I. Higuchi and P.V. Raykar, *Pharm. Res.*, 5, 566 (1988).
- 88) 細谷健一, 薬学博士学位論文, 1992, 城西大学薬学研究科.
- 89) 奥村睦男, 薬学博士学位論文, 1990, 城西大学薬学研究科.
- 90) B. Berner, R.-H. Juang and G.C. Mazzenga, *J. Pharm. Sci.*, 78, 472 (1989).
- 91) A.-H. Ghanem, H. Mahmoud, W.I. Higuchi, U.D. Rohr, S. Borsadia, P. Liu, J.L. Fox and W.R. Good, *J. Controlled Rel.*, 6, 75 (1987).
- 92) K. Sato, K. Sugibayashi and Y. Motrimoto, *J. Pharm. Sci.*, 80, 104 (1991).
- 93) Y. Morimoto, K. Sugibayashi, K. Hosoya and W.I. Higuchi, *Int. J. Pharm.*, 32, 31 (1986).
- 94) R.W. Baker and H.K. Lonsdale, *Controlled release: Mechanism and rates*. In A.C. Tanquary and R.E. Lacey (eds.), Plenum Press, New York, 1974, pp. 15-72.
- 95) P. Liu, T.K. Bergstrom and W.R. Good, *Pharm. Res.*, 8, 938 (1991).
- 96) K. Yamaoka, Y. Tanigawara and T. Uno, *J. Pharmacobio-Dyn.*, 4, 879 (1981).
- 97) 畑中朋美, 下山勝, 杉林堅次, 森本雍憲, *薬剤学*, 52, 215 (1992).
- 98) P. M. Elias, *Int. J. Dermatol.*, 20, 1 (1981).
- 99) J.A. Night, S. Anderson and J.M. Rawle, *Clin. Chem.*, 18, 199

(1972).

- 100) 山村雄一, 久木田淳, 佐野栄春, 清水 眞, (編), "現代皮膚科学大系", 中山書店, 東京, 1982, 3B, pp. 65-82.
- 101) Y. Morimoto, T. Hatanaka, K. Sugibayashi and H. Omiya, J. Pharm. Pharmacol., 44, 634 (1992).
- 102) B. Illel, H. Schaefer, J. Wepierre and O. Doucet, J. Pharm. Sci., 80, 424 (1991).
- 103) R.J. Scheuplein, J. Invest. Derm., 48, 79 (1967).
- 104) Y. Morimoto, T. Hatanaka, M. Oguchi, K. Sugibayashi, M. Kobayashi and M. Kimura, S.T.P. Pharma Sci, 2, 253 (1992).
- 105) D. Kobayashi, S. Kawabata, K. Sugibayashi, Y. Morimoto and M. Kimura, Skin Pharmacol., accepted.
- 106) 和田好夫, 下山勝, 中島加恵, 関俊暢, 杉林堅次, 森本雍憲, Ther. Res., 13, 3114 (1992).
- 107) T.J. Frantz, J. Invest. Dermatol., 64, 190 (1975).
- 108) R.L. Brounaugh, T.J. Frantz, Br. J. Dermatol., 115, 1 (1986).
- 109) J. Hadgraft, D. Beutner, H.M. Wolf, Int. J. Pharm., 89, R1 (1993).
- 110) S.C. McNeil, R.O. Potts, M.L. Francoeur, Pharm. Res., 9, 1422 (1992).
- 111) J.E. Riviere, P.L. Williams, J. Pharm. Sci., 81, 601 (1992).
- 112) F. Auclair, M. Besnard, C. Dupont, J. Wepierre, Skin Pharmacol., 4, 1 (1991).
- 113) J.P. Skelly, V.P. Shah, H.I. Maibach, R.H. Guy, R.C. Wester, G. Flynn, A. Yacobi, Pharm. Res., 4, 265 (1987).
- 114) J.H. Kou, S.D. Roy, J. Du, J. Fujiki, Pharm. Res., 10, 986 (1993).
- 115) T. Hatanaka, E. Manabe, K. Sugibayashi, Y. Morimoto, Pharm. Res., 11, 654 (1994).
- 116) K. Sato, T. Oda, K. Sugibayashi, Y. Morimoto, Chem. Pharm. Bull.,

- 36, 2232 (1988).
- 117) R.H. Guy, J. Hadtgraft, *Int. J. Pharm.*, 82, R1 (1992).
- 118) T.J. Ryan: In *Biochemistry and Physiology of the Skin*; L.A. Goldsmith (ed): Oxford, New York, 1983, pp. 817-877.
- 119) B. Jarrot, A. Anderson, R. Hooper and W. J. Louis, *J. Phar., Sci.*, 70, 665 (1981).
- 120) K. Sugibayashi, K. Mori and Y. Morimoto, *J. Controlled Rel.*, 20, 99 (1992).
- 121) K. Knutson, R.O. Potts, D.B. Guzek, G.M. Golden, J.E. Mackie, W.J. Lambert and W.I. Higuchi, *J. Controlled Rel.*, 2, 67 (1985).
- 122) J.A. Knight, S. Anderson and J.M. Rawle, *Clin. Chem.*, 18, 199 (1972).
- 123) C.C. Allain, L.S. Poon, S.G. Ciseley, W. Richmond and P.C. Fu, *Clin. Chem.*, 20, 470 (1974).
- 124) T.J. Frantz, *J. Invest. Dermatol.*, 64, 190 (1975).
- 125) S. Kobayashi, *J. Chromatogr.*, 420, 439 (1987).
- 126) M. Washitake, T. Yajima, T. Anmo, T. Arita and R. Hori, 21, 2444 (1973).